

10/533,983
Rec'd PCT/PTO 05 MAY 2005

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 mai 2004 (27.05.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/043993 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C07K 2/00

Gard (FR). PERINO, Sandrine [FR/FR]; Chemin de
Rayalette, F-30390 Domazan (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2003/003336

(74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; Cabinet Ores, 36 rue
de Saint Petersburg, F-75008 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international :

7 novembre 2003 (07.11.2003)

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

02/14077

8 novembre 2002 (08.11.2002) FR

(71) Déposants (pour tous les États désignés sauf US) : TS
PHARMA [FR/FR]; 830 Chemin de Vergon, F-13510
Eguilles (FR). UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES
PAYS DU VAUCLUSE [FR/FR]; 74 rue Louis Pasteur,
F-84029 Avignon Cedex 1 (FR).

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : PUCCI,
Bernard [FR/FR]; 12 avenue des Alpilles, F-13940 Mol-
leges (FR). POLIDORI, Ange [FR/FR]; 16D avenue de la
Synagogue, F-84000 Avignon (FR). CONTINO-PEPIN,
Christiane [FR/FR]; 10 lotissement "La Garance",
F-84210 Althen Des Paluds (FR). DURAND, Grégory
[FR/FR]; 12 avenue Louis Pasteur, BP 105, F-30401 Vil-
leneuve Lez Avignon Cedex (FR). JASSERON, Sylvain
[FR/FR]; 105 route d'Avignon, F-30650 Rochefort Du

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: NOVEL AMPIPHILIC FLUOROCARBON MOLECULAR VECTORS FOR BIOMEDICAL AND MEDICAL USE

(54) Titre : NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET
MEDICAL

(57) Abstract: Novel amphiphilic fluorocarbon molecules applicable as vectors for active ingredients, active molecules comprising
such a vector and the use thereof in the pharmaceutical field, particularly for the production of medicaments.

(57) Abrégé : Nouvelles molécules amphiphiles fluorocarbonées susceptibles d'être utilisées comme vecteur de principes actifs,
des molécules actives comportant un tel vecteur et leur utilisation dans le domaine de la pharmacie, notamment pour la préparation
de médicaments.

WO 2004/043993 A2

NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET MEDICAL

L'invention a pour objet de nouvelles molécules susceptibles d'être utilisées comme vecteur de principes actifs, des molécules actives comportant un tel vecteur et leur utilisation dans le domaine de la pharmacie, notamment pour la préparation de médicaments.

Les recherches actuelles sur la vectorisation des principes actifs tendent à améliorer de façon notable non seulement le confort du malade en privilégiant les voies d'administration les moins traumatisantes mais également l'efficacité globale d'un médicament en lui conférant une affinité cellulaire qui leur fait généralement défaut et qui est souvent responsable d'effets secondaires indésirables. Au concept classique d'activité thérapeutique se surajoute donc celui de la spécificité d'action qui module en fait la biodisponibilité du substrat.

En pratique, par exemple dans un domaine sensible tel que celui de la chimiothérapie anticancéreuse, les progrès observés ces dernières années (nouvelles drogues, nouvelles modalités d'administration, chimio-prédictivité *in vitro* ou *in vivo*, intégration dans de nouveaux schémas thérapeutiques...) permettent de penser que la qualité de la chimiothérapie va continuer à progresser si elle peut désormais se doter de nouveaux outils basés sur de nouveaux concepts de transport et de ciblage cellulaire des agents anticancéreux. Afin d'augmenter l'efficacité et la dose effective de principe actif qui sera acheminée vers le site cancéreux, il paraît en effet nécessaire d'apporter une réelle spécificité à ces médicaments et de réduire leurs effets secondaires.

Or, la structure chimique d'un médicament conditionne à la fois ses propriétés physico-chimiques et son activité biologique et notamment son affinité pour les récepteurs membranaires. Moduler ce devenir par des modifications de la structure moléculaire risque d'altérer les propriétés pharmaceutiques. On est donc amené à traiter le produit sur le plan "galénique", c'est à dire à s'intéresser à la forme pharmaceutique utilisée pour son administration, ou mieux de l'encapsuler dans des structures hôtes ou le greffer sur des molécules aptes à assurer cette vectorisation.

La vectorisation de principes actifs doit prendre en compte plusieurs paramètres pour avoir une chance de succès :

Comme nous venons de le préciser, le principe actif doit, autant que faire se peut, être isolé du milieu physiologique afin d'éviter toute interaction néfaste soit pour le médicament soit pour l'organisme.

Le support ne doit pas altérer ou mieux doit améliorer la biodisponibilité du médicament. Autrement dit, l'agent thérapeutique doit être libéré au sein de la molécule

cible (préférentiellement au niveau intracytoplasmique, dans certains cas intranucléaire) et y conserver sa totale activité.

Toutefois cette vision du médicament, agent spécifique d'un récepteur, apte à provoquer une réponse cellulaire et par là à corriger une défaillance est loin d'être générale. Si elle est juste pour les principes actifs de type hormonaux ou analgésiques, elle ne s'applique pas du tout à d'autres domaines comme par exemple les traitements anticancéreux. De tels substrats n'ont pas été conçus de cette façon : ils ne possèdent pas de spécificité de reconnaissance cellulaire. Leur but est d'inhiber la multiplication cellulaire. Ce sont généralement des agents antimitotiques et de ce fait ils peuvent agir sur l'ADN de toutes les cellules, qu'elles soient cancéreuses ou normales et créer ainsi certains troubles gênants dont la manifestation la plus fréquente est l'aplasie des tissus hématopoïétiques à laquelle s'ajoutent ensuite l'immuno-inhibition et les troubles digestifs. Depuis l'installation de la chimiothérapie, les principes actifs mis au point sont de plus en plus puissants mais malheureusement ne font pas la distinction entre cellules cancéreuses et cellules saines. Il est ainsi regrettable qu'efficacité et sélectivité en matière de traitement du cancer ne puissent être conjuguées sur un même principe actif.

Compte tenu de ces différentes considérations et observations, différents modèles vectoriels ont été proposés essentiellement de type macromoléculaire (les polymères synthétiques ou naturels) et supramoléculaire (les liposomes). Parmi tous ces modèles de vecteurs, on peut citer notamment le développement de petits polymères amphiphiles appelés télomères susceptibles de moduler la balance hydrophile-lipophile du principe actif (et donc ses propriétés physico-chimiques intrinsèques) mais également de favoriser sa pénétration intracellulaire et de lui assurer un ciblage cellulaire par l'intermédiaire d'agents de reconnaissance convenablement choisis.

“Synthesis of new cotelomers derived from tris(hydroxymethyl)aminomethane bearing arabinofuranosylcytosine moieties. Preliminary results on their in vitro and in vivo antitumoral activities » C. Contino, J.C. Maurizis, M. Ollier, M. Rapp, J.M. Lacombe, B. Pucci. *Eur. J. Med. Chem.*, (1998), 33, 809-816.

“ Synthesis and preliminary biological assessments of a new class of amphiphilic telomers bearing 5-fluorouracil moieties“ C.Contino, J.C. Maurizis and B. Pucci. *Macromol. Chem.*, (1999), 200, 1351-1355.

“A new strategy in biomedical and medical field : the synthesis and applications of telomeric structures ». P.Barthelemy, A. Polidori, B. Pucci. *Transworld Research Network, Recents developments in organic chemistry, Trivandrum*, (1999), 3, 117-140.

“Synthesis and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers. Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean Claude Maurizis , Maryse Rapp, Bernard Pucci . *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), 12, 1067-1070.

"Synthesis and preliminary biological assessments of a new class of amphiphilic telomers bearing 5-fluorouracil moieties" C.Contino, J.C. Maurizis and B. Pucci. *Macromol. Chem.*, (1999), **200**, 1351-1355

5 "Amphiphilic telomers : a new kind of antimitotic drugs macromolecular carriers." Christiane Contino-Pépin, Jean-Claude Maurizis, Bernard Pucci. *Curr. Med. Chem. – Anti-Cancer Agents*, (2002), **2**, 645-665.

Les résultats acquis au cours de ces études ont permis de mettre en évidence différents points majeurs :

10 Le contrôle de la balance hydrophile-lipophile du substrat favorise son passage transmembranaire (« Uptake and subcellular distribution of a new fluorinated telomeric carrier : study on cultivated B16 melanoma and skin rat fibroblastic cells. » F. Chehade, J.C. Maurizis, B. Pucci, A.A. Pavia, M. Ollier, A. Veyre, F. Escaig C. Jeanguillaume, R. Dennebouy, G. Slodzian, E. Hindie, *Cellular and Molecular Biology*, (1996), **42**, 335-342) sans pour autant apporter un caractère détergent et donc toxique
15 ("Efficiency of new non ionic telomeric surfactants towards the solubilization of subcellular fractions proteins" B. Pucci, J.C. Maurizis et A.A. Pavia, *BioOrg. Med. Chem Lett.* (1993), **3**, 161-164).

Ces polymères amphiphiles permettent d'assurer un ciblage cellulaire efficace à la molécule globale et donc au principe actif ("Cell targeting by glycosidic
20 telomers -Recognition ability of galactosylated telomers by the yeast *Kluyveromyces Bulgaricus* » J. Coulon, R. Bonaly, B. Pucci, A. Polidori, P. Barthelemy, C. Contino, *Bioconjugate Chem.* (1998), **9**, 152-159. "Permeability of yeast cell envelope to fluorescent galactosylated telomers derived from THAM". C. Contino, M. Briot, J. Coulon, A. Polidori, R. Bonaly and B. Pucci. *Bioconjugate Chem.*, (2000), **11**, 461-468. "Synthesis
25 and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers". Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean-Claude Maurizis, Maryse Rapp, Bernard Pucci. *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), **12**, 1067-1070).

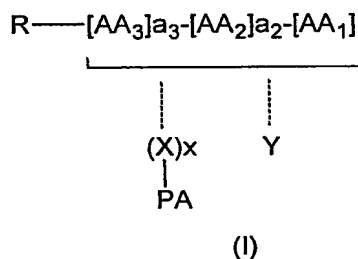
Le principe actif greffé sur le vecteur par l'intermédiaire d'un bras espaceur peptidique adapté (hydrolysable par les enzymes cytoplasmiques) est libéré au
30 niveau intracellulaire après passage du vecteur au travers de la membrane cellulaire («Synthesis and Preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers». Sylvain Jasseron, Christiane Contino-Pépin, Jean Claude Maurizis, Maryse Rapp, Bernard Pucci. *Bio. Med. Chem. Letters*, (2002), **12**, 1067-1070).

35 Cette méthode de vectorisation permet d'accroître de façon très significative l'efficacité de l'agent anticancéreux puisqu'il inhibe la prolifération des métastases, ralentit la croissance de la tumeur et prolonge la durée de vie des souris traitées d'un facteur supérieur à 3 par rapport aux souris témoins.

Malgré l'intérêt évident présenté par ces télomères qui ont été décrits dans le document WO 92/02560, un des problèmes majeurs auquel sont confrontés de tels vecteurs et qui pourrait perturber leur commercialisation et leur emploi est leur polydispersité, c'est à dire leur absence de masse et de structure bien définies.

5 Aussi, la Demanderesse s'est fixé pour objectif la conception et la préparation de molécules susceptibles d'être des vecteurs de principe actif ayant une structure bien définie, dont la préparation soit aisée et qui facilitent l'acheminement du principe actif jusqu'à sa cible.

10 L'invention a donc pour objet les molécules répondant à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

15 PA représente le principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique et dont on souhaite favoriser l'acheminement jusqu'à sa cible biologique ;

x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

AA₁, AA₂, AA₃, identiques ou différents, représentent chacun un acide aminé ;

20 a₂, a₃, identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi 0 et 1 ;

R représente un groupement choisi parmi un agent de ciblage et un agent de solubilisation. Par agent de ciblage, on entend au sens de la présente invention : une molécule favorisant l'acheminement de l'ensemble de la molécule de formule (I) jusqu'à sa cible ou toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du principe actif PA. Par agent de solubilisation, on entend un agent permettant la modulation de la balance HLB de la molécule de formule (I), notamment un agent hydrophile. Parmi les agents de ciblage utilisables dans la présente invention, on peut citer les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les hormones naturelles ou synthétiques, les peptides, les anticorps, et de façon générale, toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du

25

30

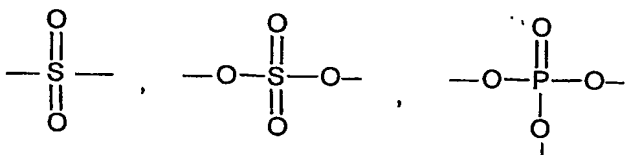
principe actif PA. Parmi les agents de solubilisation utilisables dans la présente invention, on peut citer en particulier les polyols, les polyéthers, les peptides, les polysaccharides.

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant un groupement $\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}\text{--}$, --NH-- , --O--CO--NH-- , S ou O permettant son rattachement, indiqué par les tirets ---, soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique $[\text{AA}_3]_{a3}\text{--}[\text{AA}_2]_{a2}\text{--}[\text{AA}_1]$, soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ;

les tirets --- entre PA-(X)_x et la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}\text{--}[\text{AA}_2]_{a2}\text{--}[\text{AA}_1]$ indiquent que la liaison de PA-(X)_x avec le reste de la molécule se fait avec la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ou éventuellement en extrémité de la chaîne peptidique.

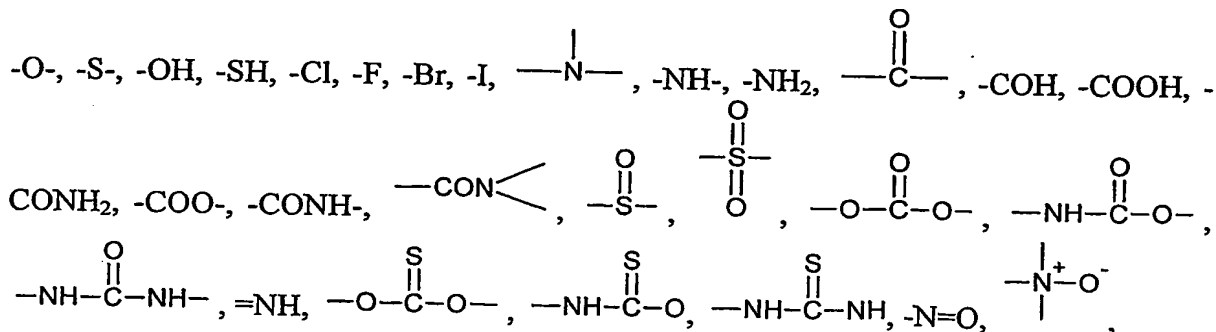
De façon plus particulière, le principe actif est choisi parmi toutes les molécules organiques ayant une activité biologique reconnue et étant susceptibles d'être reliées à un acide aminé au moyen d'une liaison qui peut être choisie parmi les fonctions --

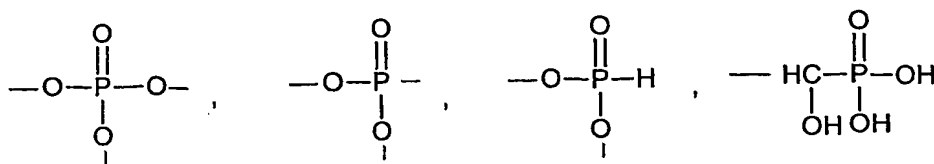
O-CO-, -CO-NH-, -NH-CO-NH-, -NH-CO-O-, O-CO-O-, -O-, -S-, $\text{--}\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{S}}\text{--}$,



Parmi ces principes actifs on peut citer notamment ceux ayant une activité anticancéreuse, antiinflammatoire, antiseptique, analgésique, neuroleptique, antifongique, les molécules ayant une activité anti radicaux libres.

De façon générale, le principe actif pourra être constitué d'une molécule linéaire ramifiée ou cyclique comportant de 1 à 30 atomes de carbone, une ou plusieurs insaturations, notamment un ou plusieurs cycles aromatiques, et une ou plusieurs fonctions choisies parmi :





Le principe actif PA est relié, par l'intermédiaire d'une liaison dont la nature a été exposée ci-dessus, soit à la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃, soit à l'extrémité de la chaîne peptidique, éventuellement par l'intermédiaire d'une chaîne peptidique X (cas où x=1)

Le lien avec l'un des deux groupements Y et -(X)_x-PA, se fait sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃. L'acide aminé relié à PA-(X)_x- ou à Y par sa chaîne latérale est choisi parmi ceux comportant une fonction acide, amide, amine, thiol, alcool sur leur chaîne latérale. Parmi ceux-ci, on peut citer notamment la lysine, l'arginine, l'ornithine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, l'asparagine, la glutamine, la sérine, la tyrosine, la cystéine. De préférence l'acide aminé relié par sa chaîne latérale à PA-(X)_x- ou à Y est choisi parmi : l'acide aspartique ou la lysine

Le bras espaceur X, lorsqu'il est présent, est constitué d'une chaîne peptidique engagée à une extrémité dans une liaison, avec la chaîne latérale ou l'extrémité de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ et à l'autre extrémité dans une liaison avec le principe actif PA.

Ce bras espaceur comprend 1 à 5 acides aminés, préférentiellement 1 à 3 acides aminés.

Le bras espaceur X et/ou la chaîne peptidique [AA₃]_{a3}-[AA₂]_{a2}-[AA₁]_{a1} peuvent être choisis pour leur affinité pour la cible du principe actif PA. Ils peuvent également comporter ou être constitués de résidus tyrosine permettant le suivi *in vivo* de la molécule de formule (I) après marquage à ¹²⁵I,

R est choisi en fonction de la cible cellulaire, il pourra être de nature saccharidique (ciblage des lectines membranaires spécifiques qui se retrouvent dans des tissus particuliers et qui reconnaissent sélectivement soit le galactose -cas du foie, des os, de certaines tumeurs cancéreuses-, soit le mannose -cas des macrophages, du cœur-, soit l'acide sialique- cas des érythrocytes -...), de nature hormonale (tels que des stéroïdes), de nature synthétique tel que l'imatinib mésylate (ST571, Gleevek®) pour cibler les kinases, des anticorps spécifiques, notamment des peptide. R peut être choisi parmi tous substrats dont les recherches antérieures ont démontré la spécificité de reconnaissance. Lorsque R est un mono ou un polysaccharide ou un peptide hydrophile, il pourra de plus, apporter à la molécule l'hydrosolubilité nécessaire à son administration IV ou IP.

Lorsque R est une chaîne peptidique, R comporte avantageusement de 3 à 15 acides aminés, encore plus avantageusement de 3 à 10 acides aminés. Il peut également comporter un ou plusieurs résidus tyrosine permettant le suivi *in vivo* de la molécule de formule (I) après marquage à ^{125}I ,

5 Les acides aminés constituant le bras espaceur X, tout comme ceux constituant la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$ ou le groupement R sont choisis parmi les acides aminés naturels comme l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'acide aspartique, la cystéine, la glutamine, l'acide glutamique, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, la sérine, la thréonine, le tryptophane, la
10 tyrosine, la valine, ou les acides aminés non naturels tels que l'hydroxyproline, la norleucine, l'ornithine, la citruline, la cyclohexylalanine.

On peut également envisager d'employer des acides Ω -aminés tels que l'acide -3-aminopropionique et l'acide 4-amino-butyrique.

Lorsque R est un peptide, la chaîne peptidique R peut être un fragment
15 d'anticorps ou épitope ayant une affinité prononcée pour la cible biologique de PA.

On peut citer, par exemple, parmi les peptides utilisables dans la présente invention : la séquence RGD, connue pour son affinité pour les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$.

R peut également être choisi parmi les polyols ou les polyéthers, notamment les polyoxydes d'éthylène de façon à donner à la molécule de formule (I) un
20 équilibre hydrophile/lipophile favorisant sa solubilité dans l'eau et sa pénétration dans la cellule jusqu'à la cible du principe actif PA.

Lorsque R est constitué d'un polyol, celui-ci est avantageusement constitué d'une chaîne alkyle comprenant de 4 à 16 atomes de carbone et de 4 à 16 groupements hydroxyle.

25 Lorsque R est constitué d'une chaîne polyoxyde d'éthylène comme motif de solubilisation, celle-ci comprend avantageusement de 5 à 30 unités oxyde d'éthylène.

R peut notamment être choisi parmi les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides.

Parmi les mono-saccharides utilisables dans la présente invention, on
30 peut citer : le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le ribose. Parmi les dérivés aminés de sucres, on peut citer notamment la glucosamine. Parmi les polysaccharides utilisables dans la présente invention, on peut citer le lactose, le cellobiose ou le maltose et le lactobionamide, le saccharose. De préférence les chaînes polysaccharides utilisées dans l'invention sont des di-saccharides.

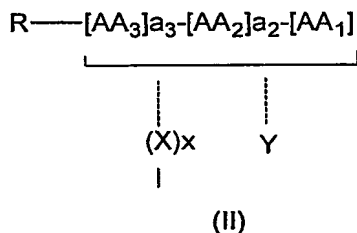
35 La fixation de R sur l'une des extrémités de la chaîne $[\text{AA}_3]_{a3}-[\text{AA}_2]_{a2}-[\text{AA}_1]$ se fait par une liaison adaptée : éther, amide, carbamate, thioéther, ester, urée, uréthane, en fonction de la fonctionnalité qui peut être greffée sur R.

La chaîne hydrocarbonée fluorée est préférentiellement choisie parmi celles répondant à la formule A-Y' dans laquelle A représente un groupement choisi

parmi : $\begin{array}{c} \text{O} \\ || \\ -\text{C}- \end{array}$, -NH-, -O-CO-NH-, S, O et Y' représente une molécule répondant à la formule $-(\text{CH}_2)_r(\text{CF}_2)_t\text{F}$, dans laquelle r et t représentent deux entiers avec : $12 \geq r+t \geq 4$,
5 tels que par exemple :

- $(\text{CF}_2)_4\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_5\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_6\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_7\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_8\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_9\text{F}$; -
- $(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_{13}\text{F}$; - $(\text{CF}_2)_{14}\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_3\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_4\text{F}$; -
- $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_5\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_6\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_7\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_8\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_9\text{F}$; - CH_2-
- $(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; - $\text{CH}_2-(\text{CF}_2)_{13}\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_2\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-$
10 - $(\text{CF}_2)_3\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_4\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_5\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_6\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_7\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-$
- $(\text{CF}_2)_8\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_9\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{10}\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{11}\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_2-(\text{CF}_2)_{12}\text{F}$; -
- $(\text{CH}_2)_3-(\text{CF}_2)_1\text{F}$; - $(\text{CH}_2)_{11}-(\text{CF}_2)\text{F}$. De préférence $t \geq 2$. De préférence $12 \geq r \geq 4$,
encore plus préférentiellement $10 \geq r \geq 6$

L'invention a également pour objet toute molécule biologiquement active
15 comportant un fragment de formule (II)



dans laquelle R, AA₁, AA₂, AA₃, a₂, a₃, Y, X, x ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus.

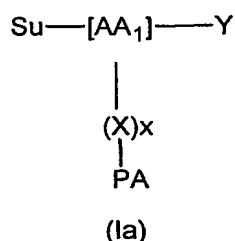
20 En effet, l'invention fournit un fragment de molécule de formule (II) à laquelle on peut accrocher par une liaison appropriée un principe actif de toute nature, comme exposé ci-dessus, de façon à favoriser la pénétration de ce principe actif dans l'organisme humain ou animal et de façon à permettre à ce principe actif d'atteindre sa cible biologique.

25 En effet, le caractère amphiphile de la molécule favorise les passages transmembranaires et l'éventuelle présence d'un agent de reconnaissance spécifique de la cible à laquelle est associé le principe actif favorise son cheminement jusqu'à cette cible.

L'invention a donc également pour objet l'utilisation d'un fragment de molécule de formule (II) tel que défini ci-dessus pour favoriser la biodisponibilité d'un
30 actif.

La préparation des molécules de formule (I) est illustrée ci-dessous par des exemples correspondant à plusieurs variantes de l'invention. De façon plus générale, il est fait appel aux méthodes de protection, déprotection et couplage de la synthèse peptidique, méthodes bien connues de l'homme du métier et qui sont exposées notamment dans l'ouvrage « The peptides » Gross and Meienhofer, 3 vols, *Academic Press*, New York, 1979-1981.

Parmi les molécules répondant à la formule (I), l'un des objets particuliers de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ia) ci-dessous :



dans laquelle Su représente une variante du groupement R, choisie parmi un monosaccharide, un dérivé aminé de monosaccharide, un polysaccharide, un polyol ou éventuellement un polyéther tels qu'ils ont été définis plus haut;

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale, par l'intermédiaire de laquelle il est relié soit à (X)_x-PA soit à Y; AA₁ est relié à Su et soit à (X)_x-PA, soit à Y, par ses extrémités N- et C-terminales.

X, x, PA et Y ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus. Y est rattaché à l'extrémité aminée ou acide de AA₁ ou éventuellement à sa chaîne latérale

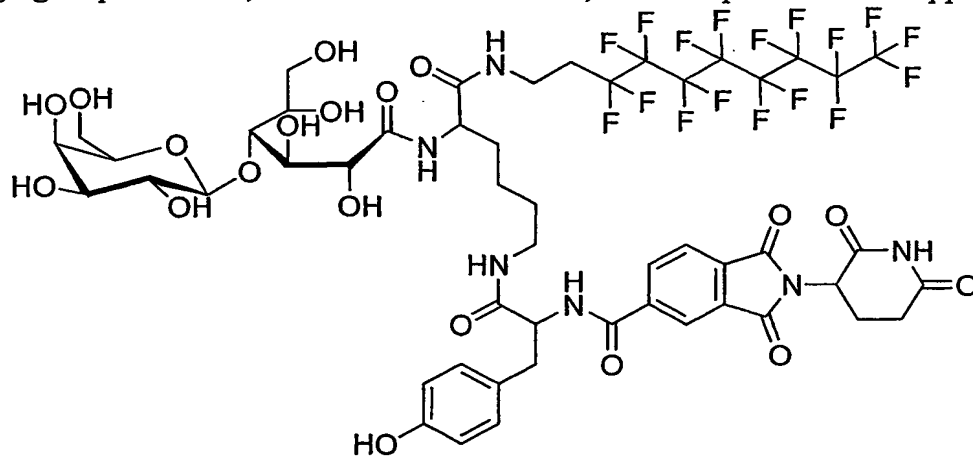
De façon préférentielle, l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

- Su représente un mono ou un polysaccharide ;
- X représente un bras espaceur de nature peptidique comportant au moins un résidu tyrosine ; de préférence X représente la tyrosine ;
- AA₁ représente un acide aminé choisi parmi l'arginine et la lysine ;
- Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₆-C₁₂ comportant de 5 à 23 atomes de fluor, reliée à l'acide aminé AA₁ par une fonction -NH-.

Deux exemples de composés de formule (Ia) sont illustrés ci-dessous et dans les exemples :

a) Exemple 1 : Ciblage des sites angiogéniques.

L'angiogénèse est un processus biologique naturel de création de nouveaux microvaisseaux sanguins à partir de veinules préexistantes. C'est un phénomène complexe qui intervient normalement chez l'adulte seulement sous certaines conditions spécifiques telles que la cicatrisation des blessures, l'inflammation ou le développement du corpus luteum au cours du cycle menstruel. Sous des conditions normales le processus d'angiogénèse s'arrête au bout d'un laps de temps approprié indiquant une bonne régulation des facteurs stimulateurs et inhibiteurs. Sous certaines conditions pathologiques telles que la croissance des tumeurs solides, l'arthrite rhumatoïde, le psoriasis et la rétinopathie diabétique, l'angiogénèse se développe de façon nettement moins contrôlée (« Antiangiogenic agents and their promising potential in combined therapy ». P.A. Burke, S.J. DeNardo, *Crit. Rev. In Oncology/Hematology*, (2001), 39, 155-171). Il y a plus de 30 ans J. Folkman émet l'hypothèse que la croissance des tumeurs solides était intimement liée au développement de l'angiogénèse, depuis de très nombreuses équipes se sont intéressées à ce phénomène et ont essayé de mettre au point des substrats susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse ("Tumor angiogenic therapeutic applications" J. Folkman *Engl. J. Med.* (1971), 285, 1182-1186 et "Tumor angiogenesis past, present and the near future". R.S. Kerbel *Carcinogenesis* (2000), 21, 505-521). Parmi les différentes structures testées, le thalidomide initialement prescrit aux femmes enceintes comme sédatif et responsable de problèmes de tératogénèse, s'est révélé extrêmement intéressant pour inhiber le développement vasculaire. L'idée qui a prévalu dans le travail réalisé a été de greffer le thalidomide sur le vecteur préalablement doté d'un motif radioactif tel que la tyrosine marquée à l'iode 125. Le but recherché dans cet exemple est de visualiser aisément les sites angiogéniques *in vivo*, donc les tumeurs solides, et de bloquer leur développement.



Molécule modèle A

Dans ce but un motif lysine central a été doté d'une chaîne fluorocarbonée sur la fonction acide primaire, d'un motif de type lactose capable

d'apporter à la molécule l'hydrosolubilité nécessaire à son administration intraveineuse ou intrapéritonéale, de la tyrosine que l'on marque ensuite à l'iode 125 et sur laquelle on greffe le thalidomide préalablement doté d'une fonction acide réactive en position 3.

Selon une variante préférée de l'invention, dans les molécules répondant
5 à la formule (Ia) le principe actif est choisi parmi les molécules susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse, notamment le thalidomide.

b) Exemple 2 : Vectorisation de spins-traps

Les cytopathies mitochondriales regroupent une grande variété de
maladies dont le dénominateur commun est un déficit de la chaîne respiratoire
10 mitochondriale. Du fait de la présence ubiquitaire des mitochondries dans l'organisme, ce dysfonctionnement peut affecter n'importe quel organe. L'atteinte peut être isolée ou, au contraire, pluriviscérale ayant alors généralement une dominante neuromusculaire. Il n'existe actuellement aucun traitement pour ces maladies qui peuvent être classées dans le cadre des "maladies orphelines".

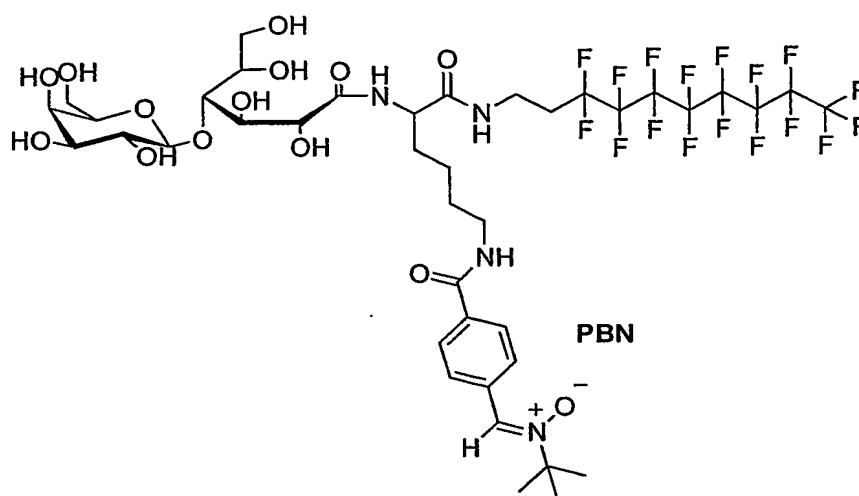
Il est néanmoins désormais clair que les mitochondries étant dans la
cellule le lieu privilégié de la production des radicaux libres, les déficits de la chaîne
respiratoire sont très fréquemment associés à une surproduction de radicaux libres avec
pour conséquence une mort cellulaire accélérée dans les tissus atteints. Les travaux récents
effectués à l'hôpital Necker dans l'équipe du Dr P. Rustin (" Increased apoptosis *in vivo* in
20 cells lacking mitochondrial DNA gene expression" Wang J, Silva JP, Gustafsson C, Rustin P, Larsson NG. *Proc Natl Acad Sci USA* (2001) (in press)) ont permis de montrer sur une série de cellules humaines en culture l'importance de cette production des radicaux libres de l'oxygène. Ces cultures cellulaires représentent tous les types de déficits affectant les différents complexes de la chaîne respiratoire connus chez l'homme. Elles ont été
25 caractérisées tant du point de vue du déficit touchant la chaîne respiratoire que du point de vue de la production des radicaux libres et de ses conséquences sur la survie cellulaire. Cette collection de cellules représente un outil irremplaçable pour permettre d'étudier l'efficacité de toute molécule ayant pour cible les réactions radicalaires associées aux déficits de la chaîne respiratoire.

L'identification récente dans notre équipe d'une molécule "spin-trap"
capable de bloquer la mort cellulaire dans des modèles cellulaires d'apoptose induite par
les radicaux libres produits par la chaîne respiratoire, nous a donné une base pour
développer des molécules voisines présentant une efficacité encore améliorée
("Superoxide-induced massive apoptosis in cultured skin fibroblasts harboring the
35 Neurogenic Ataxia Retinitis Pigmentosa (NARP) mutation in the ATPase-6 gene of the mitochondrial DNA". Geromel V, Kadhon N, Ceballos-Picot I, Ouari O, Polidori A, Munnich A, Rötig A, Rustin P. *Hum Mol Genet* (2001) (in press)) Le but poursuivi ici a été d'affiner et de simplifier la structure de ces substrats tout en conservant leur activité

biologique afin de mettre au point un processus synthétique aisément adaptable au stade industriel. Les tests ont été réalisés sur plusieurs modèles cellulaires : des cultures cellulaires présentant un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale (fibroblastes en culture), des cocultures neurones/cellules musculaires soumises à l'action de radicaux libres et enfin sur des cellules extraites de peaux ayant subi une brûlure au 3^{ème} degré.

La finalité des recherches entreprises a été de disposer de pièges à radicaux libres utilisables sur le plan clinique pour traiter les phénomènes d'apoptose et plus généralement de mort cellulaire imputables à la surproduction de radicaux libres. Les résultats extrêmement encourageants obtenus sur ces types cellulaires justifient pleinement le développement de ces modèles de vecteurs amphiphiles.

La molécule **E**, bâtie sur le modèle précédent, a été dotée dans ce cas particulier d'un spin-trap bien connu et efficace qui contient un dérivé de la PBN.



Molécule E

Les premiers tests ont été effectués *in vitro* à l'hôpital Necker sur des fibroblastes issus d'une biopsie de peau d'enfant présentant la mutation NARP. De même que le produit TA1PBN ("Superoxide-induced massive apoptosis in cultured skin fibroblasts harboring the Neurogenic Ataxia Retinitis Pigmentosa (NARP) mutation in the ATPase-6 gene of the mitochondrial DNA". Geromel V, Kadhom N, Ceballos-Picot I, Ouari O, Polidori A, Munnich A, Rötig A, Rustin P. *Hum Mol Genet* (2001) (in press) et "Synthesis of a glycolipidic amphiphile nitron as a new spin trap for biological applications". O. Ouari, A. Polidori, F. Chalier, P. Tordo, B. Pucci. *J. Org. Chem.*, (1999), **64**, 3554-3556). précédemment testé, la molécule **E** présente un pouvoir de protection des cellules et inhibe le processus d'apoptose. Aucune toxicité n'a été mesurée sur ce type de produit sur l'ensemble des cellules mises en culture.

Ces résultats valident une fois de plus l'intérêt d'un tel concept de vectorisation et montrent clairement ses potentialités dans des domaines d'application tout à fait différents.

5 Selon une autre variante préférée de l'invention, dans les molécules répondant à la formule (Ia), le principe actif est choisi parmi les agents anti-radicalaires, notamment les dérivés du N-benzylidène tertibutyl amine oxyde.

Parmi les molécules répondant à la formule (II), un autre objet particulier de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ib) :

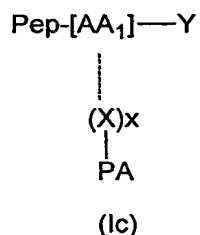
10 $\text{Pep}-[\text{AA}_1]-\text{Y}$

(Ib)

15 dans laquelle Y et AA_1 ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus, notamment que dans la formule (Ia), Pep, qui est une variante de R, représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10, préférentiellement de 4 à 6 acides aminés. Avantageusement, Pep ou AA_1 comportent au moins un motif tyrosine.

De façon avantageuse, Pep est choisi pour son affinité pour une cible biologique donnée, notamment cette chaîne peptidique peut comporter une séquence RGD (argine-glycine-acide aspartique) dont on sait qu'elle est reconnue par les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$.

20 Un autre objet de l'invention est constitué des molécules répondant à la formule (Ic) :



25 dans laquelle x, X, PA, AA_1 et Y ont la même définition que dans la formule (I) ci-dessus ; notamment les molécules dans lesquelles x, X, PA, AA_1 et Y ont la même définition que dans la formule (Ia) ci-dessus ; Pep a la même définition que dans la formule (Ib) ci-dessus.

Préférentiellement, une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

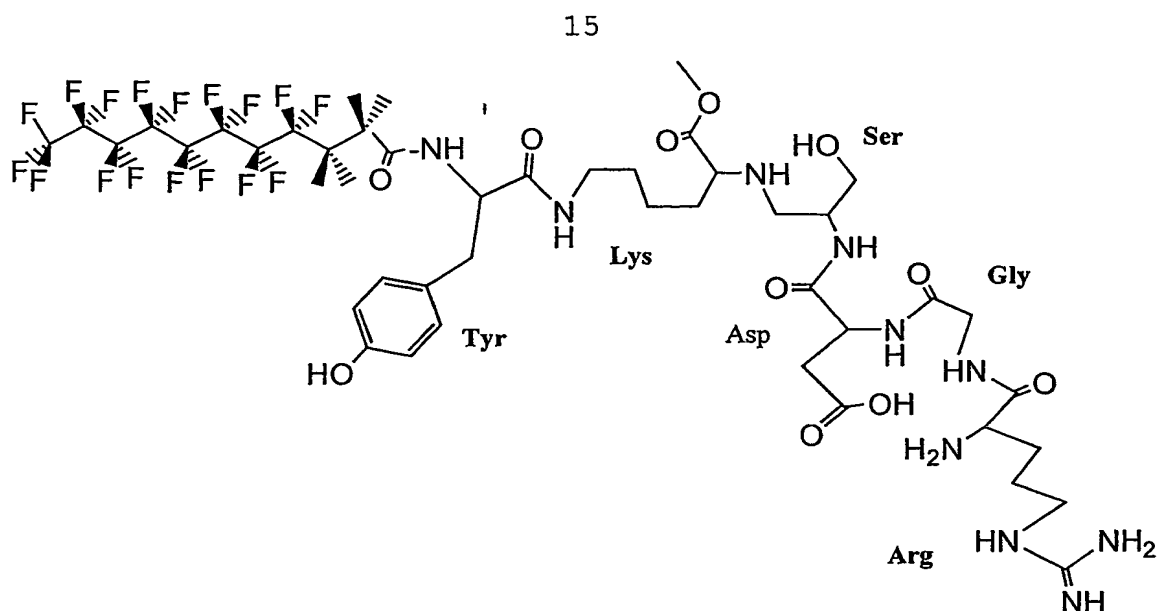
- 30
- Pep est un peptide reconnu par les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$ et PA est un agent antimitotique ;
 - X, Pep ou AA_1 comporte au moins un résidu tyrosine,

- X représente une chaîne de 1 à 3 acides aminés,

Un exemple de composés de formule (Ib) et (Ic) est illustré ci-dessous et dans la partie expérimentale :

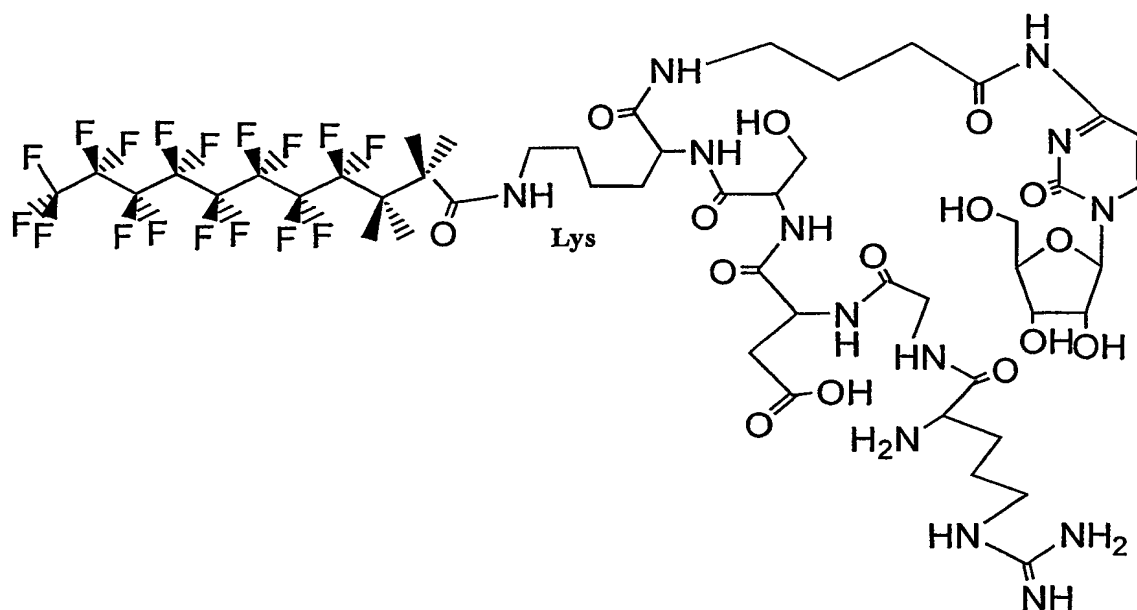
c) Exemple 3 : Thérapie anticancéreuse.

5 A l'heure actuelle, aucune technique n'a permis de mettre en évidence un critère de différenciation efficace et donc de ciblage adéquat des cellules tumorales et des cellules saines. Comme on l'a vu cependant, la croissance d'une tumeur cancéreuse est étroitement liée à son taux de vascularisation et donc au phénomène d'angiogénèse qui l'accompagne. Ces observations ont amené la communauté scientifique à mettre au point
10 des substrats, comme on l'a vu, aptes à inhiber l' angiogénèse et donc à bloquer par cet intermédiaire le développement des tumeurs. Il est en effet maintenant couramment admis que des protéines membranaires portées par les cellules angiogéniques et nommées intégrines participent activement au processus de prolifération de ces cellules. Plus particulièrement les intégrines $\alpha V\beta 3$ reconnaissent une séquence peptidique particulière, la
15 séquence RGD (arginine-glycine-acide aspartique). Le greffage de ce motif sur le vecteur proposé doit donc lui apporter une capacité de ciblage spécifique des sites d'angiogénèse et donc *in fine* des sites tumoraux. L'ajout sur ce même vecteur d'un agent antimitotique devrait permettre la destruction sélective des cellules cancéreuses. Dans cette optique la molécule B a été préparée dans un premier temps pour vérifier l'innocuité du vecteur et
20 déterminer sa spécificité. Afin de donner un plus grand degré de liberté à l'agent de ciblage celui-ci a été greffé sur la lysine centrale par l'intermédiaire d'un acide aminé hydrophobe, la sérine. La molécule est hydrosoluble et présente un caractère amphiphile.



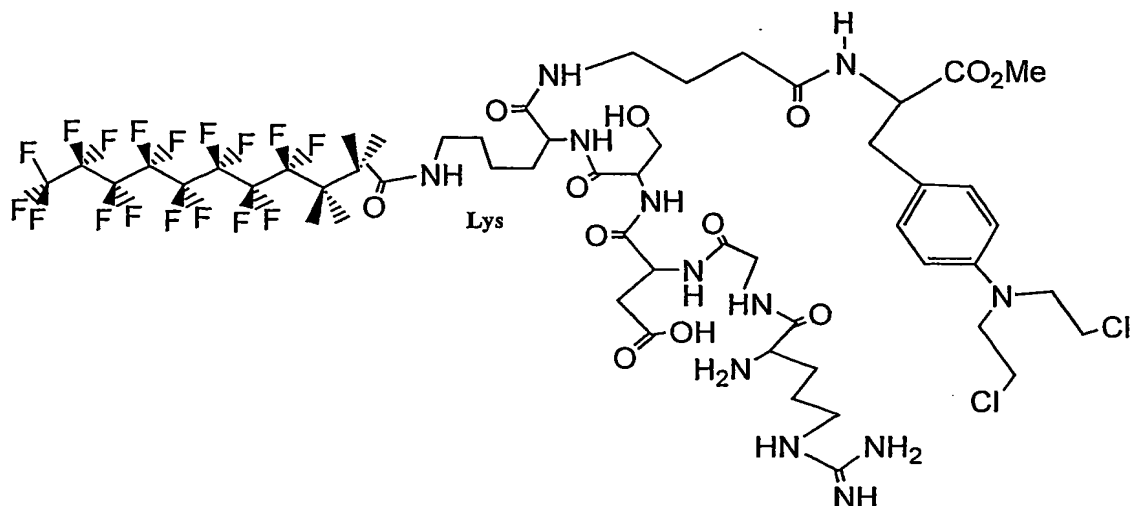
Structure de la molécule B

- Compte tenu de ces résultats positifs, de nouveaux vecteurs porteurs de la
- 5 séquence peptidique RGD et d'un agent antimétabolique tel que le melphalan (molécule D) ou l'Ara-C (Molécules C et F) ont alors été synthétisés et sont en cours d'analyse pour leur activité anticancéreuse.

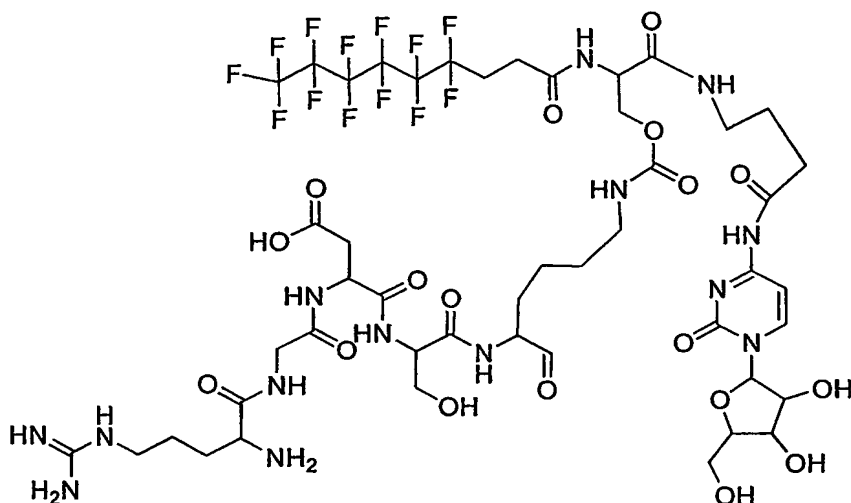


Molécule C (Ara-C)

16



Molécule D (Melfalan)



Molécule F

5

Structure des vecteurs C, F et D

10

Les agents antimitotiques choisis ne sont ici que des modèles et illustrent simplement la commodité d'introduction et de transport d'un agent antimitotique donné. Ce type de vecteur peut et sera également utilisé comme agent de vectorisation de substrats tels que l'adryamicine (dans ce cas précis la molécule (Ic) comporte un fragment peptidique, soit en X soit en Pep, de type Gly-Phe-Leu-Gly), de 5-Fu (5-Fluorouracile), de Melfalan, d'inhibiteurs de tyrosine kinase tel que l'imatinib mésylate (STI571, Glivec®) par exemple ou plus généralement de tout agent anticancéreux apte à être greffé sur ces supports. La présence de la chaîne hydrophobe fluorocarbonée favorise le passage

transmembranaire. Le relargage du principe actif est assuré par hydrolyse des liaisons peptidiques par l'intermédiaire des enzymes cytoplasmiques adaptées.

Les premiers résultats *in vitro* déjà obtenus valident pleinement ce concept.

5 L'invention a en outre pour objet l'utilisation des composés répondant à la formule (I) telle que définie ci-dessus pour la préparation d'un médicament.

En effet, il a été démontré que les composés répondant à la formule (I) selon la présente invention étaient dotés d'une biodisponibilité et d'une capacité à atteindre leur cible biologique supérieure ou égale à celle des composés de l'art antérieur.

10 Cette propriété permet d'envisager l'utilisation des molécules de l'invention dans des domaines variées :

- dans le domaine thérapeutique, les produits de l'invention peuvent être employés pour la prévention et/ou le traitement de toutes sortes de pathologies, notamment les différentes formes de cancer, les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation
15 des espèces radicalaires oxygénées.

L'invention a par conséquent pour objet les compositions pharmaceutiques comprenant un composé selon l'invention dans un support pharmaceutiquement acceptable.

20 Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule A, C, D ou F pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter le cancer.

Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule B pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à détecter la présence de cellules cancéreuses.

25 Elle a également pour objet l'utilisation d'un composé de formule E pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation des espèces radicalaires oxygénées, notamment les maladies immunitaires et inflammatoires, le syndrome d'ischémie-reperfusion, l'artériosclérose, la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, les lésions
30 dues aux radiations UV et ionisantes, certains cancers tels que les mélanomes, le vieillissement cellulaire.

Les produits de l'invention peuvent être administrés par toute voie connue de l'homme du métier, notamment par injection intraveineuse ou intramusculaire, par administration orale ou cutanée. Ils peuvent être utilisés seuls ou en association avec
35 d'autres actifs. Leur dosage et la quantité administrée quotidiennement sont adaptés en fonction de l'activité mesurée pour la molécule concernée et en fonction du poids du patient.

- dans le domaine cosmétique, le composé de formule E peut être utilisé pour prévenir et/ou traiter les effets du vieillissement.

L'invention a donc également pour objet une composition cosmétique comprenant un composé de formule E dans un support cosmétiquement acceptable.

5 Ladite composition peut être destinée à une application sur la peau ou sur les phanères (ongles, cheveux).

Elle peut se présenter sous forme d'une solution aqueuse ou huileuse, d'une émulsion eau-dans-l'huile ou huile-dans-l'eau, d'une émulsion triple, d'un onguent.

10 Les composés de l'invention peuvent être introduits dans toute composition cosmétique pour laquelle une activité antiradicalaire est recherchée : une crème de soin cutanée, un produit de protection solaire, un démaquillant, un masque pour la peau ou les cheveux, un shampoing, un produit de maquillage tel qu'un rouge à lèvres, un fard, un fond de teint, un vernis à ongles, etc...

15 Du fait de leur solubilité dans des milieux variés, les composés de l'invention sont faciles à mettre en œuvre et peuvent être employés dans des conditions très diverses.

PARTIE EXPERIMENTALE

1/ Exemple 1 :

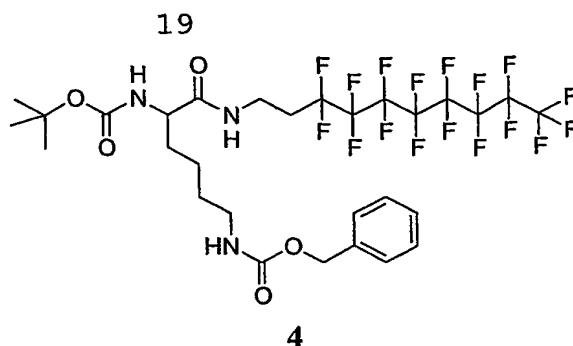
A- Préparation de la molécule A

20 2g (4mmol) de composé azoture de 1H,1H,2H,2H perfluorodécane dissous dans 30ml de méthanol anhydre, sont soumis à une hydrogénation en présence de palladium sur charbon. Après 4 heures de réaction, le milieu est filtré sur célite et le solvant évaporé sous pression réduite. L'amine correspondante 2 est isolée sans purification (rendement quantitatif).

25 Le composé 2 est remis en réaction dans 30 ml de dichlorométhane en présence de 2.2g (4mmol) de Boc-Lys-(Z)- OPhF₅ 3. Le pH de la solution est amené à 8 par ajout de quelques gouttes de DIEA.

Après 16 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite.

30 Le milieu est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 3/7). Par cristallisation dans un mélange acétate d'éthyle/hexane, le composé fluoré 4 (2.68 g; 3.24mmol; 80%) est obtenu sous forme d'une poudre blanche.



rf : 0.36 dans cyclohexane/acétate d'éthyle 5/5.

$$[\alpha]_D = -8.2(c:1; \text{CHCl}_3).$$

Point de fusion : 86.5-88.3°C

RMN ^1H (250MHZ, CDCl_3) : δ 7.36 (5H, s, CH arom), 6.85 (1H, m, NH amide), 5.27 (1H, d, J=6.65Hz, NH uréthane), 5.11 (2H, s, CH_2O), 4.99 (1H, t, J=5.8Hz, NH uréthane), 4.06 (1H, m, CHCO), 3.58 (2H, dd, J=6.5Hz, CH_2NH), 3.20 (2H, dd, J=6.2Hz, CH_2NH), 2.35 (2H, m, CH_2CF_2), 2.0 à 1.0 (15H, m, CH_3 du Boc et CH_2 Lys).

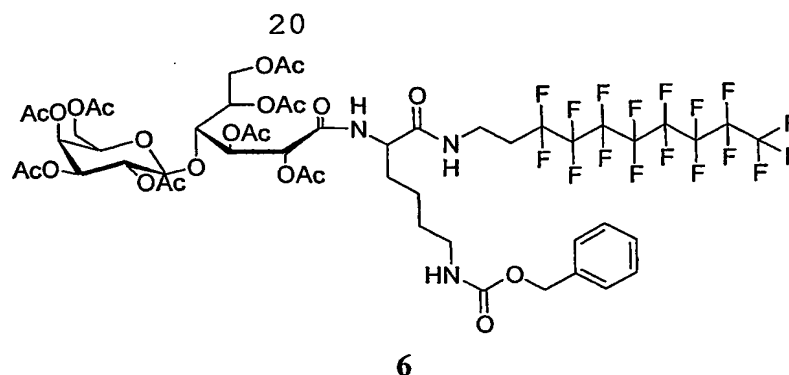
RMN ¹³C(62.86MHZ, CDCl₃) : δ 172.5 (CONH), 156.7 ; 155.9 (OCONH), 136.6 (C^{IV} arom.), 128.5 ; 128.1 (CH arom.), 80.4 (C^{IV}), 66.7 (CH₂OCONH), 54.4 (CHCO), 40.2 (CH₂NH), 31.9 (CH₂NH), 31.3 (CH₂), 30.7(CH₂Rf), 29.5 (CH₂), 28.2 (CH₃ du tert butyl), 22.4.(CH₂).

RMN ^{19}F (235MHZ, CDCl_3) : δ -80.7 (3F, s, CF_3), -113.9 (2F, s, CF_2CH_2), -121.9 (6F, s, $(\text{CF}_2)_3$), -122.7(2F, s, CF_2), -123.5 (2F, s, CF_2), -126.6 (2F, s, CF_2CF_3).

0.5g (0.6mmol) de composé 4 dissout dans 30 ml de dioxane subit une hydrogénation en présence de palladium sur charbon.

Après 15 heures de réaction, le milieu est filtré sur célite et le solvant évaporé sous pression réduite. L'amine **5** obtenue est mise en réaction dans du dichlorométhane en présence de 0.21g (0.44mmol) de lactobionolactone fraîchement préparée et de la DIEA est ajoutée au milieu afin d'amener le pH de la solution à 8.

Après disparition totale de l'amine **5** (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. 40 mL d'un mélange anhydride acétique/pyridine 1:1 sont additionnés à froid sur le brut réactionnel. L'agitation est maintenue à température ambiante pendant 18 heures puis le mélange réactionnel est jeté sur 150 mL d'HCl 1N. La phase aqueuse est extraite par 3 fois avec 50 mL de dichlorométhane. La phase organique est respectivement lavée à deux reprises par 60 mL d'HCl 1N, puis par 60 mL de saumure et enfin séchée sur Na₂SO₄. Les solvants sont éliminés sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6/4 puis 7/3) pour conduire au composé **6** (0.55 g; 0.39mmol; 65%) sous forme de poudre blanche.



rf : 0.22 dans acétate d'éthyle/cyclohexane 6/4

$[\alpha]_D = +2.9$ (c, 1, CHCl_3)

5 Point de fusion : 65 °C (début de décomposition)

RMN ^1H (250 MHz, DMSO-d_6) : δ 8.07 (2H, m, NH), 7.34 (5H, s, CH arom.), 7.01 (1H, m, NH), 5.47 (1H, m, H du sucre), 5.30 à 5.10 (2H, m, H du sucre), 5.02 à 4.79 (5H, m, $\text{CH}_2\text{-O}$ et H du sucre), 4.50 à 3.90 (8H, m, H du sucre et $\text{CH}\alpha$ de la lysine), 3.38 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.97 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-NH}$), 2.30 (2H, m, $\text{CH}_2\text{-CF}_2$), 2.14, 2.09, 2.04, 10 2.01, 1.96, 1.92 (24H, 6s, CH_3 des acétyls), 1.65 à 1.10 (6H, m, CH_2 de la lysine)

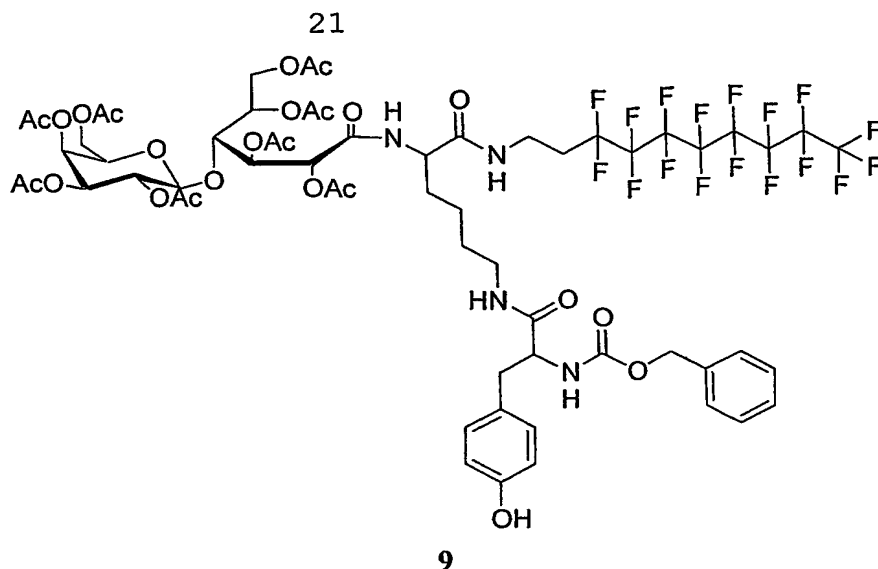
RMN ^{13}C (62.86 MHz, CDCl_3) : δ 171.3 (CO-NH), 170.5, 170.5, 170.1, 170.0, 170.0, 169.7, 169.2 (7s, CO-O), 167.9 (CO-NH), 156.7 (O-CO-NH), 136.7 (C^{IV} arom.), 128.4, 128.0, 127.9, (CH arom.), 101.6 (CH-1'), 77.9 (CH-4), 72.7 (CH-2), 71.1, 70.9 (CH-5' et CH-3'), 70.0 (CH-5), 69.4 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 66.5 ($\text{CH}_2\text{-O}$), 61.6, 61.0 ($\text{CH}_2\text{-6}$ et $\text{CH}_2\text{-6'}$), 52.6 (CH-CO), 40.4 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 31.9 ($\text{CH}_2\text{-NH}$), 31.2 ($\text{CH}_2\text{-}$), 30.5 ($\text{CH}_2\text{-Rf}$), 29.1 ($\text{CH}_2\text{-}$), 22.2 ($\text{CH}_2\text{-}$), 20.6, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 (CH_3 des acetyls)

20 RMN ^{19}F (235 MHz, DMSO-d_6) : δ -80.2 (3F, s, CF_3), -113.0 (2F, s, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$), -121.4 (6F, s, 3 CF_2), -122.2 (2F, s, CF_2), -123.0 (2F, s, CF_2), -125.4 (2F, s, $\text{CF}_2\text{-CH}_2$).

La déprotection du groupe benzyloxycarbonyl du composé 6 se déroule selon le protocole expérimental déjà décrit lors du passage du composé 4 au composé 5. A partir de 0.5 g (0.36mmol) de composé 6, on obtient l'amine 7 avec un rendement quantitatif.

25 L'amine obtenue 7 est mise en réaction dans 30 ml de dichlorométhane en présence de 0.21g (0.44mmol) de Z-Tyr-OPhF₅ (composé 8) et de la DIEA est ajoutée afin d'amener le pH de la solution à 8.

30 Après disparition totale de l'amine 7 (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne gel de silice (éluant : acétate d'éthyle 7/cyclohexane3). Le composé 9 (0.32 g; 0.21mmol; 58%) est obtenu sous forme d'une poudre blanche.



rf : 0.35 dans acétate d'éthyle7/cyclohexane3.

$[\alpha]_D = +1.5$ (c: 1; CHCl₃).

5 Point de fusion : 37.6°C (début de décomposition).

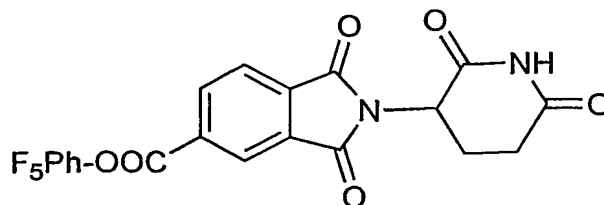
RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.01 (2H, m, NH), 7.71 (1H, m, NH), 7.21 (5H, s, CH arom.), 7.05 (3H, m, NH, 2H arom tyr), 6.89 (2H, d, J= 8.29Hz 2H arom tyr), 5.22 (1H, d, J=5.35Hz H du sucre), 5.02 (2H, s, CH₂Ph), 4.99 (2H, s, CH₂Ph), 4.92 (2H, m, H du sucre), 4.70 à 4.55 (5H, m, H du sucre), 4.01 à 3.75 (9H, m, CH_α tyr, CH_α lys, CH₂NH, 5H du sucre), 2.76 (2H, m, CH₂-NH), 2.16 (2H, m, CH₂-CF₂), 1.90 à 1.68 (24H, 6s, CH₃ des acétyls), 1.29 à 0.91 (6H, m, CH₂ de la lysine)

15 RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.85; 171.48 (CO-NH), 170.67, 170.32, 170.18, 170.0, 169.63; 169.42 (6s, CO-O), 156.29 (CO-NH), 137.47; 136.61; 135.54 (C^{IV} arom.), 130.71; 129.03; 128.80; 128.71; 128.12; 127.96; 121.17 (CH arom.), 101.07 (CH-1'), 78.69 (CH-4), 72.22 (CH-2), 70.86; 70.21 (CH-5' et CH-3'), 70.06 (CH-5), 69.61 (CH-3), 69.3 (CH-2'), 67.60 (CH-4'), 65.69 (CH₂-O), 61.72, 61.48 (CH₂-6 et CH₂-6'), 56.62 (CH_αtyr); 52.68 (CH_αlys); 37.48 (CH₂-NH), 31.86 (CH₂-NH), 31.43 (CH₂-), 30.08 (CH₂-Rf), 29.09 (CH₂-), 22.77 (CH₂-), 21.08, 21.03, 20.94, 20.86, 20.76 (CH₃ des acétyls)

20 RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.19 (3F,s, CF₃), -113.38 (2F, s, CF₂-CH₂), -121.67 (6F,s, 3CF₂), -122.45 (2F, s, CF₂), -123.24(2F, s, CF₂), -125.70 (2F, s, CF₂-CH₂).

25 A nouveau, selon le protocole expérimental déjà décrit, 0.3g (0.19mmol) de composé 9 dissout dans 30ml d'éthanol subit une hydrogénation en présence de palladium sur charbon.

L'amine 10 obtenue est mise en réaction dans du dichlorométhane en présence de 0.107 g (0.23mmol) d'ester actif de thalidomide 11 et de la DIEA est ajoutée afin d'amener le pH de la solution à 8.



R_f = 0.65 dans AcOEt 7/cyclohex. 3

5

[α_D] = +3.9 (c:1; DMF)

RMN ¹H (250MHz, CDCl₃) : 8.63 (1H, s, Ph); 8.61 (1H, d, Ph); 8.09 (1H, d, Ph); 5.04 (1H, m, NCH); 2.86 (3H, m, CH₂CO, CHCH₂CO); 2.19 (2H, m, CHCH₂).

RMN ¹⁹F (235MHz, CDCl₃) : -152.6 (2F, d, CF); -156.67 (1F, t, CF); -161.87 (2F, t, CF).

10

RMN ¹³C (62.86, DMSO) : 177.97; 174.93; 171.64; 171.61; 170.96 (5 CO); 142.01; 140.94; 139.68; 136.89; 129.09; 128.64 (C aromatiques); 54.44 (NCH); 36.13 (CH₂CO); 27.12 (NCHCH₂)

11

Après disparition totale de l'amine **10** (CCM), le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur colonne gel de silice (éluant : acétate d'éthyle /cyclohexane 8/2 à 9/1).

15

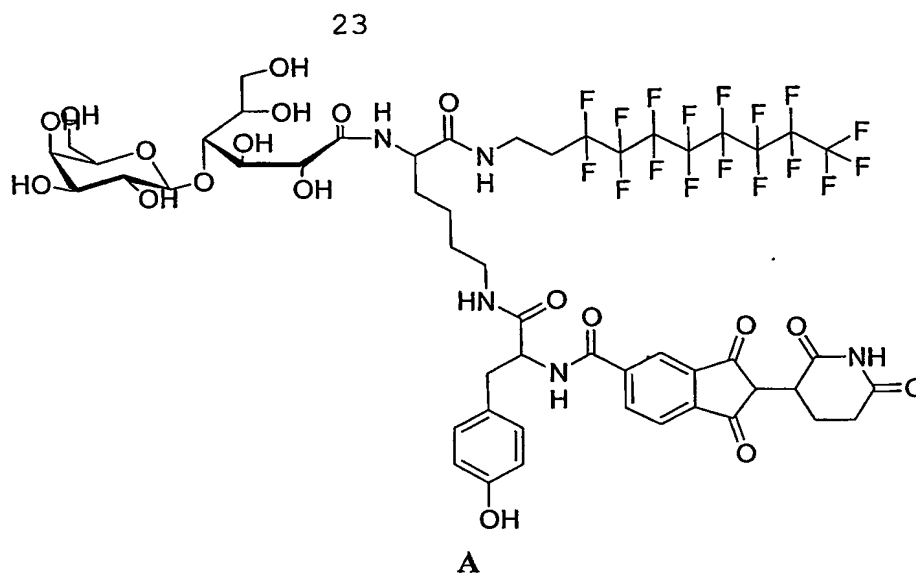
Le composé **12** est obtenu avec un très faible rendement (11mg; 6.4μmol; 4.5%).

rf : 0.63 dans acétate d'éthyle .

La désacétylation de la partie saccharidique de la molécule est effectuée à température ambiante dans du méthanol contenant une quantité catalytique de méthylate de sodium.

20

Après traitement sur de la résine H⁺ (amberlite IRC 50), filtration et évaporation du solvant, le produit désacétylé **A** est isolé avec un rendement quantitatif.



B- Tests biologiques

- 5 Un tel substrat ne présente aucune toxicité rédhibitoire sur des cultures cellulaires de fibroblastes et de mélanomes B16. *In vivo*, la molécule se concentre dans le stroma de la tumeur ce qui permet de la visualiser de façon très nette (Cf Tableau 1).

Tissu	15 mn	1 h
Tumeur (stroma)	4,5 ± 0,7	5,4 ± 0,2
Tumeur (centre)	2,6 ± 0,5	2,7 ± 0,5
Sang	5,9 ± 1,2	3,4 ± 0,7
Foie	4,5 ± 1,1	2,2 ± 0,8
Rein	4,6 ± 0,5	4,0 ± 0,9
Thyroïde	5,6 ± 0,8	9,8 ± 1,7

- 10 **Tableau 1 :** Radioactivité mesurée dans différents organes de souris porteuses de mélanomes B16 après injection par voie IP de la molécule A (10 μ Ci/animal).

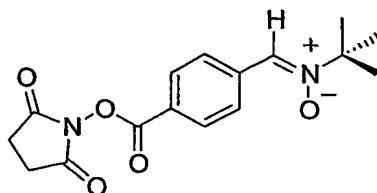
- 15 Les recherches en cours permettront de préciser son efficacité par rapport au thalidomide seul pour bloquer le développement tumoral. Les premiers résultats obtenus au cours de tests de croissance vasculaire sur des embryons de poulet (chick aortic ring assays) ont montré l'efficacité de cette structure pour inhiber la croissance des microvaisseaux. la molécule A se révèle efficace à 20 μ M et bloque totalement le développement à 200 μ M alors qu'à de telles concentrations le thalidomide se révèle inefficace.

Ce premier résultat démontre l'innocuité générale de la structure proposée et son intérêt éventuel pour le diagnostic, le thalidomide n'étant ici qu'un exemple de principe actif.

2/ Exemple 2 : préparation de la molécule E.

Cet exemple de synthèse est illustré par la figure 1.

Synthèse de l'ester actif HOÓCPBN



Y

L'acétate de N-(tert-butyl)hydroxylamine est dissout dans une solution aqueuse saturée de carbonate de sodium. L'hydroxylamine est extraite à l'éther. La phase organique est séchée sur Na₂SO₄ puis le solvant est éliminé sous pression réduite pour conduire à la N-*tert*-butylhydroxylamine libre sous forme de cristaux blancs pulvérulents.

1.00 g de 4-carboxy benzaldéhyde (6.67 mmol – 1 équiv.) et une pointe de spatule de tamis moléculaire 4 Å sont mis en suspension sous atmosphère d'argon dans 5 mL d'éthanol anhydre dégazé. 0.570 g d'hydroxylamine (6.37 mmol – 0.95 équiv.) en solution dans 5 mL d'éthanol sont additionnés à la solution de benzaldéhyde, et le milieu est porté sous obscurité à 60 °C. Après 18 heures, 0.200 g d'hydroxylamine (2.25 mmol – 0.33 équiv.) sont additionnés au milieu et l'agitation est poursuivie pendant 18 nouvelles heures. Le mélange réactionnel est filtré sur couche de célite, le solvant est éliminé sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4). Après recristallisation dans un mélange méthanol/éther la nitrone X (0.590 g – 2.67 mmol – 40 %) est obtenue sous forme d'une poudre blanche.

Masse molaire (C₁₂H₁₅NO₃) : 221,3 g.mol⁻¹

Point de fusion : 214.5 - 215.7 °C

RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.42 (2H, m, J = 8.5 Hz, H arom.), 7.95 (3H, m, H arom. et CH=N(O)), 1.51 (9H, s, CH₃ du *tert*-butyl)

RMN ¹³C (62.86 MHz, DMSO-d₆) : δ 166.9 (CO), 135.3 (C^{IV} arom), 131.0 (CH=N(O)), 129.2 (CH arom.), 128.3 (C^{IV} arom), 127.9 (CH arom.), 71.1 (C^{IV}), 27.8 (CH₃ du *tert*-butyl)

UV (MeOH, nm) : λ_{max} = 287

0.260 g de nitrone X (1.18 mmol – 1 équiv.) sont mis en solution sous atmosphère d'argon dans 15 ml de dioxane. 0.290 g de DCC (1.41 mmol – 1.2 équiv.) et 0.16 g de HOSu (1.41 mmol – 1.2 équiv.) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 48

heures d'agitation le milieu réactionnel est filtré sur verre fritté (Porosité 4) puis le solvant est éliminé sous pression réduite. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4) puis recristallisation dans un mélange acétate d'éthyle/hexane, le composé Y (0.25 g – 0.79 mol – 67 %) est obtenu sous forme

5 d'une poudre blanche.

Masse molaire ($C_{16}H_{18}N_2O_5$) : 318,3 g.mol⁻¹

Point de fusion : 177.4 - 178.3 °C

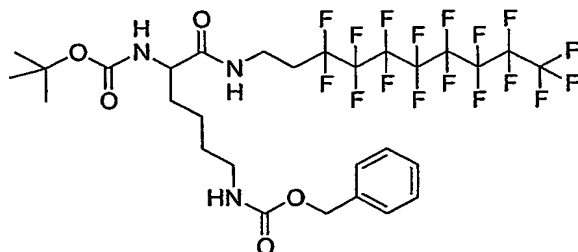
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 8.37 (2H, m, J = 8.6 Hz, H arom.), 8.12 (2H, d, J = 8.6 Hz, H arom.), 7.65 (1H, s, CH=N(O)), 2.89 (4H, s, CH₂-CO), 1.61 (9H, s, CH₃ du *tert*-butyl)

10

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 169.3, 161.3 (CO), 136.8 (C^{IV} arom), 130.7 (CH arom.), 128.6 (C^{IV} arom), 128.6 (CH arom.), 125.5 (CH=N(O)), 72.2 (C^{IV}), 28.4 (CH₂-CO), 25.7 (CH₃ du *tert*-butyl)

Synthèse du [5-*tert*-Butoxycarbonylamino-5-(3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,10-heptafluoro-decylcarbamoyl)-pentyl]-carbamic acid benzyl ester 3

15



20

25

2.26 g d'azoture $C_8F_{17}CH_2CH_2N_3$ (4.62 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 20 ml d'éther. Le milieu est porté à 0°C et 300 mg de palladium sur charbon (10 % - 65 mg/mmol) sont additionnés par fractions. Après 6 heures d'agitation dans la bombe à hydrogénation (pression 8 bars), le milieu est filtré sur couche de célite et les solvants sont éliminés sous pression réduite. L'amine $C_8F_{17}CH_2CH_2NH_2$ 2 est obtenue sans purification.

30

1.79 g de Boc-Lys(Z)OH (4.70 mmol – 1 équiv.), 1.07 g de DCC (5.18 mmol – 1.1 équiv.) et 0.64 g d'HOBT (4.70 mmol – 1 équiv.) sont mis en solution dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Après 15 minutes d'agitation, l'amine 2 en solution dans 10 mL de dichlorométhane anhydre est ajoutée au mélange. L'agitation est poursuivie pendant 24 heures. Le brut réactionnel est filtré sur verre fritté (Porosité 4) puis les solvants sont éliminés sous pression réduite. Après purification par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : cyclohexane/acétate d'éthyle 7:3 à 6:4) le composé fluoré 3 (3.11 g – 3.70 mmol – 79 %) est obtenue sous forme d'une poudre blanche.

35

26

Masse molaire ($C_{29}H_{32}F_{17}N_3O_5$) : 825,6 g.mol⁻¹

Point de fusion : 86.5 – 88.3 °C

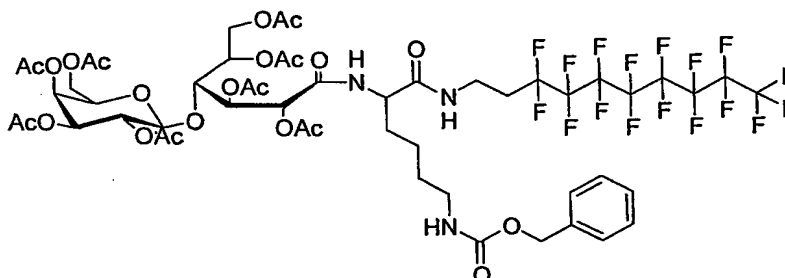
RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 7.36 (5H, s, CH arom.), 6.85 (1H, m, NH amide), 5.27 (1H, d, J = 6.65 Hz, NH uréthane), 5.11 (2H, s, CH₂-O), 4.99 (1H, t, J = 5.8 Hz, NH uréthane), 4.06 (1H, m, CH-CO), 3.58 (2H, dd, J = 6.5 Hz, CH₂-NH), 3.20 (2H, dd, J = 6.2 Hz, CH₂-NH), 2.35 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.0 à 1.0 (15 H, m, CH₃ du Boc et CH₂ lys)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 172.5 (CO-NH), 156.7, 155.9 (O-CO-NH), 136.6 (C^{IV} arom.), 128.5, 128.1 (CH arom.), 80.4 (C^{IV}), 66.7 (CH₂-O-CO-NH), 54.4 (CH-CO), 40.2 (CH₂-NH), 31.9 (triplet, CH₂-NH), 31.3 (CH₂), 30.7 (CH₂-Rf), 29.5 (CH₂), 28.2 (CH₃ du *tert*-butyl), 22.4 (CH₂)

RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.7 (CF₃, s), -113.9 (CF₂-CF₃, s), -121.9 (3 CF₂, m), -122.7 (CF₂, s), -123.5 (CF₂, s), -126.0 (CF₂-CH₂, s)

[α]_D = - 8.2 (c, 1, CHCl₃)

Synthèse du LactoLys(Z)C₈F₁₇(OAc)₈ 5



2.03 g du composé 3 (2.45 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 20 mL de dichlorométhane anhydre. Le milieu est amené à 0°C et 40 mL d'un mélange CH₂Cl₂/TFA 8.5:1.5 sont additionnés goutte à goutte en conservant la température à 0°C tout au long de l'addition. Après 4 heures d'agitation les solvants sont éliminés sous pression réduite. Le brut est repris dans l'éther puis évaporé afin d'éliminer les traces de TFA résiduelles par co-évaporation. L'opération est répétée plusieurs fois et conduit à l'amine libre 4.

Parallèlement 1.15 g d'acide lactobionique (3.19 mmol – 1.3 équiv.) est mis en suspension dans 40 mL d'un mélange méthoxyéthanol/toluène 1:1 acidifié par 3 gouttes de TFA.

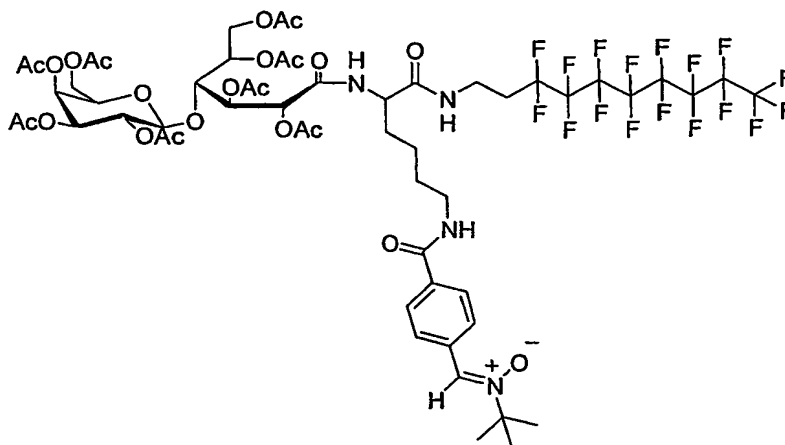
Après évaporation à 45 °C sous pression réduite, le milieu est repris dans 30 mL de mélange méthoxyéthanol/toluène 2:1 puis évaporé sec. Cette dernière opération est répétée 2 fois pour conduire à la lactobionolactone.

La lactobionolactone et l'amine 4 sont mises en solution sous atmosphère d'argon dans 40 mL de méthanol. Le pH de la solution est amené à 9 par

addition de TEA puis le milieu est porté à reflux pendant 24 heures. Après élimination du méthanol sous pression réduite, 40 mL d'un mélange anhydride acétique/pyridine 1:1 sont additionnés à froid sur le brut. L'agitation est maintenue pendant 18 heures puis le mélange réactionnel est jeté sur 150 mL d'HCl 1N. la phase aqueuse est extraite par 3 fois 50 mL de dichlorométhane. La phase organique est respectivement lavée par 2 fois 60 mL d'HCl 1N, puis par 60 mL de saumure et enfin séchée sur Na₂SO₄. Les solvants sont éliminés sous pression réduite et le brut est purifié par chromatographie flash sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle/cyclohexane 6:4 à 7:3) pour conduire au composé 5 (2.23 g – 1.59 mmol – 65 %) sous forme de poudre blanche.

- 10 Masse molaire (C₅₂H₆₀F₁₇N₃O₂₂) : 1402,0 g.mol⁻¹
 Point de fusion : 65 °C (début de décomposition)
 RMN ¹H (250 MHz, DMSO-d₆) : δ 8.07 (2H, m, NH), 7.34 (5H, s, CH arom.), 7.01 (1H, m, NH), 5.47 (1H, m, H du sucre), 5.30 à 5.10 (2H, m, H du sucre), 5.02 à 4.79 (5H, m, CH₂-O et H du sucre), 4.50 à 3.90 (8H, m, H du sucre et CH de la lysine),
 15 3.38 (2H, m, CH₂-NH), 2.97 (2H, m, CH₂-NH), 2.30 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.14, 2.09, 2.04, 2.01, 1.96, 1.92 (24H, 6s, CH₃ des acétyls), 1.65 à 1.10 (6H, m, CH₂ de la lysine)
 RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.3 (CO-NH), 170.5, 170.5, 170.1, 170.0, 170.0, 169.7, 169.2 (7s, CO-O), 167.9 (CO-NH), 156.7 (O-CO-NH), 136.7 (C^{IV} arom.), 128.4, 128.0, 127.9, (CH arom.), 101.6 (CH-1'), 77.9 (CH-4), 72.7 (CH-2), 71.1, 20 70.9 (CH-5' et CH-3'), 70.0 (CH-5), 69.4 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 66.5 (CH₂-O), 61.6, 61.0 (CH₂-6 et CH₂-6'), 52.6 (CH-CO), 40.4 (CH₂-NH), 31.9 (triplet, CH₂-NH), 31.2 (CH₂-), 30.5 (triplet, CH₂-Rf), 29.1 (CH₂-), 22.2 (CH₂-), 20.6, 20.5, 20.4, 20.4, 20.3 (5s, CH₃ des acétyls)
 RMN ¹⁹F (235 MHz, DMSO-d₆) : δ -80.2 (CF₃, s), -113.0 (CF₂-CF₃, s), -
 25 121.4 (3 CF₂, s), -122.2 (CF₂, s), -123.0 (CF₂, s), -125.4 (CF₂-CH₂, s)
 [α]_D = + 2.9 (c, 1, CHCl₃)

Synthèse du LactoLys(PBN)C₈F₁₇(OAc)₈ 7



0.400 g de composé 5 (0.28 mmol – 1 équiv.) sont dissous dans 10 ml de dioxane. Le milieu est porté à 0°C et 0.190 g de palladium sur charbon (10 % - 65 mg/mmol) sont additionnés par fractions. Après 20 heures d'agitation dans la bombe à hydrogénation (pression 8 bars), le milieu est filtré sur couche de célite et les solvants sont éliminés sous pression réduite. L'amine 6 est obtenue sous forme d'une poudre blanche sans purification.

L'amine 6 est mise en solution sous flux d'argon dans 5 mL de dichlorométhane anhydre. 0.090 g d'ester actif X (0.28 mmol – 1 équiv.) sont ajoutés au milieu et le pH est amené à 9 par addition de DIEA.

L'agitation est poursuivie sous atmosphère d'argon pendant 24 heures. Les solvants sont évaporés sous pression réduite et le brut est purifié par flash chromatographie sur gel de silice (éluant : acétate d'éthyle). Une purification supplémentaire par chromatographie d'exclusion de taille sur résine Sephadex LH-20 (éluant : dichlorométhane/éthanol 1:1) permet d'obtenir la nitrone 7 (0.230 g – 0.156 mmol – 54 %) sous forme d'une poudre blanche.

Masse molaire ($C_{56}H_{67}F_{17}N_4O_{22}$) : 1471,1 g.mol⁻¹

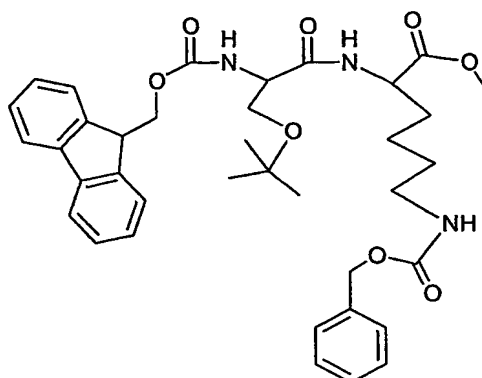
Point de fusion : 75 °C (début de décomposition)

RMN ¹H (250 MHz, CDCl₃) : δ 8.36 (2H, d, J = 8.3 Hz, H arom.), 7.92 (2H, d, J = 8.4 Hz, H arom.), 7.68 (1H, s, CH=N(O)), 6.94 (3H, m, NH), 5.51 (1H, dd, J = 2 Hz et J = 4.4 Hz, H-4'), 5.32 (2H, m, H-2 et H-3), 5.17 à 4.95 (3H, m, H-2', H-5 et H-3'), 4.62 (1H, d, J = 7.7 Hz, H-1'), 4.50 (1H, dd, J = 2.7 Hz et J = 12.5 Hz, H du sucre), 4.33 (1H, m, CH de la lysine), 4.18 (1H, dd, J = 1.6 Hz et J = 6.3 Hz, H sucre), 4.12 à 3.87 (4H, m, H sucre et H-5'), 3.50 (2H, m, CH₂-NH), 3.39 (2H, m, CH₂-NH), 2.35 (2H, m, CH₂-CF₂), 2.15, 2.09, 2.08, 2.04, 2.02, 2.00, 1.96 (24H, 7s, CH₃ des acétyls), 1.60 (11H, m, CH₃ du *tert*-butyl et CH₂ Lys), 1.85 (2H, m, CH₂ Lys), 1.35 (2H, m, CH₂ Lys)

RMN ¹³C (62.86 MHz, CDCl₃) : δ 171.5 (CO-NH), 170.6, 170.5, 170.3, 170.3, 170.0, 169.7, 169.32 (7s, CO-O), 168.2 (CO-NH), 167.1 (CO-NH), 135.2 (C^{IV} arom.), 133.7 (C^{IV} arom.), 129.3 (CH=N(O)), 128.6, 127.3, (CH arom.), 101.7 (CH-1'), 78.5 (CH-4), 72.9 (CH-2), 71.4 (C^{IV}), 71.0, 70.9 (CH-5' et CH-3'), 68.9 (CH-5), 69.3 (CH-3), 69.0 (CH-2'), 66.9 (CH-4'), 61.6, 61.1 (CH₂-6 et CH₂-6'), 52.7 (CH-CO), 39.4 (CH₂-NH), 31.9 (m, CH₂-NH), 31.1 (CH₂-), 30.5 (triplet, CH₂-Rf), 28.7 (CH₂-), 28.2 (CH₃ du *tert*-butyl), 22.2 (CH₂-), 20.7, 20.7, 20.7, 20.6, 20.5, 20.5, 20.4, (7s, CH₃ des acétyls)

RMN ¹⁹F (235 MHz, CDCl₃) : δ -80.7(s, CF₃), -114.2 (s, CF₂-CF₃), -121.9 (s, 3 CF₂), -122.7 (s, CF₂), -123.5 (s, CF₂), -126.1 (s, CF₂-CH₂)

[α]_D = + 1.6 (c, 1, CHCl₃)

3/ Exemple 3 :**A- Synthèse du composé B****1**

Dans un ballon de 100 ml, 0,99 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol) de $\text{Cl}^- \text{H}_3\text{N Lys(Z) OMe}$ sont dissous dans 10 ml de Dichlorométhane. Le pH est amené à 8 à l'aide de TEA. Ensuite 1,15 g ($3 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq.) de Fmoc Ser(OtBu) OH sont ajoutés ainsi que 1,72 g ($3,9 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,3 eq) de BOP.

Le pH est maintenu à 8 tout au long de la réaction. Le milieu est maintenu sous agitation à température ambiante pendant 24 heures. Une fois la réaction terminée (CCM), la phase organique est lavée au HCl 1N, puis au NaHCO_3 afin de rétablir un pH de 7. La phase organique est séchée sur Na_2SO_4 , filtrée, puis évaporée sous pression réduite. La cristallisation peut s'effectuer dans un mélange Dichlorométhane / Et_2O . On obtient 1,93g du **composé 1** sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 98%.

Rf = 0,58 dans 6 Acétate d'éthyle/ cyclohexane 4.

Température de dégradation: $80,6^\circ\text{C}$. $[\alpha]_{20}^D = +17,9$ (c, 1, CH_2Cl_2).

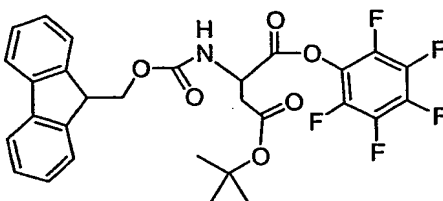
RMN du ^1H dans CDCl_3 :

$\delta = 7,75$ (2H, d, ar Fmoc); 7,60 (2H, d, ar Fmoc); 7,43-7,21 (5H, m, ar Fmoc, NH Lys); 7,31 (5H, s, ar Z Lys); 5,78 (1H, d, NH Ser); 5,08 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,84 (1H, t, NH Z Lys); 4,60 (1H, m, CH Lys); 4,39 (2H, d, CH_2 Fmoc); 4,24 (2H, m, CH Ser , CH Fmoc); 3,81 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,73 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,39 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,17 (2H, $\text{CH}_2\text{-NH Lys}$); 1,85-1,29 (6H, m, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys); 1,22 (9H, s, tBu Ser).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 :

$\delta = 172,94$ (CO Lys); 170,88 (CO Ser); 157,08; 156,67 (2 O-CO-NH Fmoc et Z); 144,52; 144,36; 141,93; 137,23; 129,13; 128,71; 128,35; 127,71; 125,76; 120,62 (C ar Fmoc et Z); 74,96 ($\text{C(CH}_3)_3$ Ser); 67,80; 67,24 (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); 62,39 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 54,93 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 52,99; 52,74 (OCH_3 Lys et $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); 47,76 (CH

Fmoc); 41,27 (CH₂-NH-CO-O Lys); 32,74 (CH₂- CH₂-NH-CO-O Lys); 30,02 (C*-CH₂ Lys); 27,99 (C(CH₃)₃ Ser); 22,92 (C*-CH₂- CH₂ Lys).



2

5

Dans un ballon de 50 ml, on dissout 0,68 g ($1,53 \cdot 10^{-3}$ mol) de Fmoc Asp(OtBu)OH, dans 10 ml de dichlorométhane, 0,34 g ($1,83 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) de pentafluorophénol et 0,38 g ($1,83 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) de DCC. La réaction est laissée sous agitation à température ambiante pendant 15 heures. Après filtration, le milieu est concentré sous pression réduite. L'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice (éluant acétate d'éthyle/ cyclohexane : 2/8). La cristallisation se fait dans l'acétate d'éthyle/ hexane. On obtient 760 mg de 2 sous forme d'une poudre blanche.

Rendement : 86,2%

15

Point de fusion : 94,6 – 95,8 °C. $[\alpha]_D^{20} = -2,3$ (c, 1, CH₂Cl₂).

RMN du ¹H dans le CDCl₃:

δ = 7,77 (2H, d, ar Fmoc); 7,61 (2H, d, ar Fmoc); 7,43-7,28 (4H, m, ar Fmoc); 5,98 (1H, d, NH); 4,98 (1H, m, CH Asp); 4,49-4,23 (3H, m, CH₂ Fmoc, CH Fmoc); 3,15 (1H, dd, CH₂ Asp); 2,90 (1H, dd, CH₂ Asp); 1,48 (9H, s, tBu Asp).

20

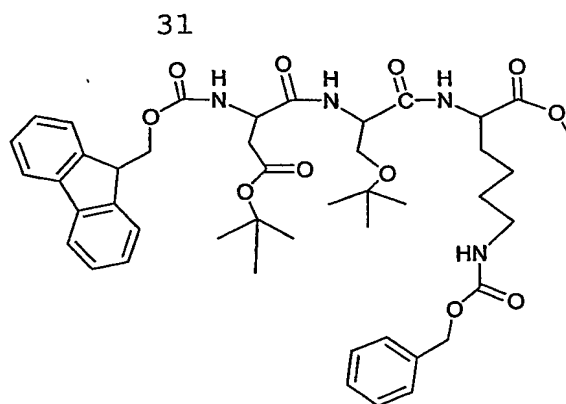
RMN du ¹³C dans le CDCl₃:

δ = 170,35; 168,09 (2 CO-O); 156,55 (O-CO-NH Fmoc); 144,43; 144,26; 142,01; 128,47; 127,78; 125,79; 120,71 (C ar Fmoc); 143,82-136,34 (CF) ; 83,39 (C(CH₃)₃ Asp); 68,21 (CH₂ Fmoc); 50,97 (C*-CH₂ Asp); 47,76 (CH Fmoc); 38,31 (C*-CH₂ Asp); 28,68 (C(CH₃)₃ Asp).

25

RMN du ¹⁹F dans le CDCl₃:

δ = -152,22 (2F); -157,36 (1F); -162,10 (2F)



3

Avant le couplage entre le dipeptide et l'acide aminé activé, une étape de déprotection du composé 2 est nécessaire. Pour cela, 1,3 g (1,97 mmole) du dipeptide 1 sont dissous dans 15 ml d'un mélange de pipéridine / dichlorométhane à 10% v/v. Laissé sous agitation pendant deux heures à température ambiante, le milieu est ensuite lavé dans une ampoule à décanter, avec une solution de HCl 1N. La phase organique est ensuite lavée avec une solution saturée d'hydrogénocarbonate de sodium. Les phases organiques sont ensuite séchées sur sulfate de sodium, puis concentrées sous pression réduite. Le couplage peut alors être réalisé.

Dans un ballon monocol de 100 ml, le dipeptide déprotégé précédemment est dissout dans 20 ml de dichlorométhane en présence de 1,138g (1,97 mmole, 1eq) de composé 2 sont ajoutés dans le ballon. La réaction se déroule à température ambiante sous flux d'azote, à l'abrit de la lumière, à un pH de 8 fixé par de la DIEA. Au bout de 15 heures, la réaction est terminée (CCM). Le milieu réactionnel est concentré et le résidu est chromatographié sur gel de silice dans un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 5/5. Après évaporation du solvant, on obtient 970 mg de composé 3 sous forme d'un gel translucide.

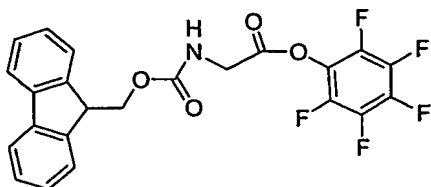
Rendement : 59,2%.

RMN du ^1H dans CDCl_3 : δ = 7,78 (2H, d, ar Fmoc); 7,61 (2H, d, ar Fmoc); 7,46-7,23 (6H, m, ar Fmoc, NH Lys, NH Ser); 7,36 (5H, s, H ar Z Lys); 5,93 (1H, d, NH Asp); 5,11 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,91 (1H, t, NH Z Lys); 4,57 (2H, m, CH Asp, CH Lys); 4,48-4,42 (3H, m, CH Ser, CH_2 Fmoc); 4,26 (1H, t, CH Fmoc); 3,85 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,74 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,41 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,17 (2H, CH_2 -NH Lys); 2,88 (1H, dd, CH_2 Asp); 2,72 (1H, dd, CH_2 Asp); 1,48 (9H, s, tBu Asp); 1,84-1,28 (6H, m, CH - CH_2 - CH_2 - CH_2 Lys); 1,22 (9H, s, tBu Ser).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : δ = 172.96; 171.74; 171.14 ; 170.52 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp); 157.06; 156.65 (2 O- CO -NH Fmoc et Z); 144.32; 141.94; 137.28; 129.14; 128.71; 128.41; 127.76; 125.72; 120.65 (C ar Fmoc et Z); 82.59 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 74.80 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 68.04; 67,88 (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); 61.61 (C^* - CH_2 Ser); 53.99 (C^* -

CH₂ Ser); 52.95; 52.70 (OCH₃ Lys et C*-CH₂ Lys); 52.04 (C*-CH₂ Asp); 47.74 (CH Fmoc); 41.32 (CH₂-NH-CO-O Lys); 38.25 (C*-CH₂ Asp); 32.55 (CH₂-CH₂-NH-CO-O Lys); 29.93 (C*-CH₂ Lys); 28.67 (C(CH₃)₃ Asp); 27.97 (C(CH₃)₃ Ser); 22.99 (C*-CH₂-CH₂ Lys).

5



4

Dans 10 ml de dichlorométhane, sont dissous 1 g ($3,36 \cdot 10^{-3}$ mol) de Fmoc Gly OH, 0,681g de pentafluorophénol ($3,7 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,1 eq) et 0,764 g de DCC ($3,7 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,1 eq). Le milieu est abandonné à température ambiante pendant 24 heures. Le milieu réactionnel est ensuite filtré, puis le filtrat est concentré par évaporation sous pression réduite. Le résidu subit une chromatographie flash sur gel de silice avec un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 5/5. la cristallisation se fait dans un mélange acétate d'éthyle / cyclohexane. 955 mg de 4 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement : 61,3%

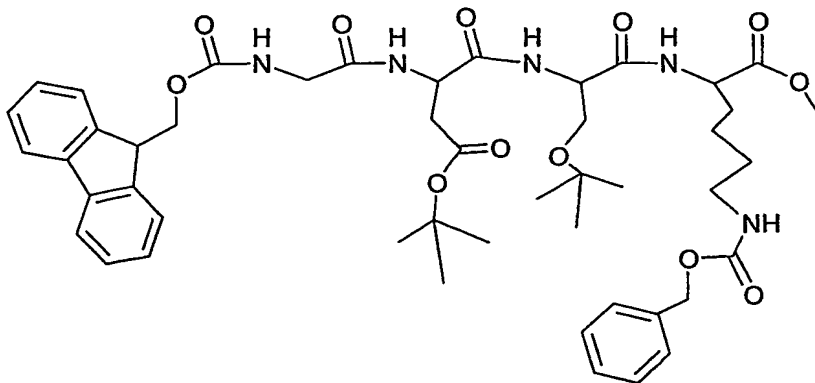
Point de fusion : 156,3-157,4. $[\alpha]_{20}^D = -1,3$ (c, 1, CH₂Cl₂).

RMN du ¹H dans CDCl₃ : δ = 7,82 (2H, d, ar Fmoc); 7,65 (2H, d, ar Fmoc); 7,47-7,25 (4H, m, ar Fmoc); 5,40 (1H, t, NH); 4,54-4,42 (5H, m, CH₂ Fmoc, CH Fmoc, CH₂ Gly)

RMN du ¹³C dans le CDCl₃ : δ = 167,14 (CO-O Gly); 156,84 (NH-CO-O); 144,31 ; 142,00; 128,46; 127,77; 125,66; 120,70 (C ar Fmoc); 68,14 (CH₂ Fmoc); 47,73 (CH Fmoc); 42,87 (CH₂ Gly).

RMN du ¹⁹F dans le CDCl₃ : δ = -152,44 (2F); -157,25 (1F); -161,96 (2F).

25



5

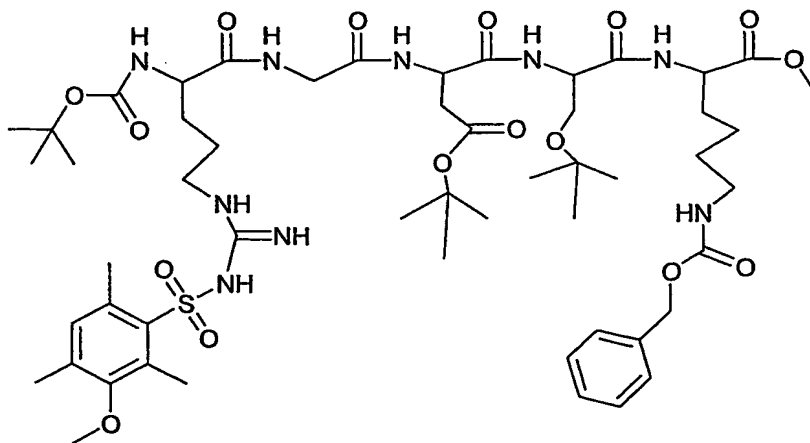
Cette synthèse est précédée de la déprotection du tripeptide suivant le même protocole que pour la synthèse de ce tripeptide (composé 3). Ce sont 500 mg (6.10^{-4} mole) de 3 qui sont déprotégés. Une fois déprotégé, ce peptide est dissout dans 10 ml de dichlorométhane dans un ballon de 100 ml. 278 mg (6.10^{-4} mole, 1eq) du composé 4 sont ajoutés au milieu réactionnel. La réaction se fait à température ambiante sous flux d'azote, et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Au bout de 16 heures, la réaction est terminée (CCM). Après évaporation sous pression réduite du milieu, l'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice avec un mélange éluant acétate d'éthyle / cyclohexane : 6/3. Dans un mélange d'acétate d'éthyle / cyclohexane, on obtient 426 mg de 5 sous forme d'une poudre blanche. Rendement : 80%.

Température de dégradation: 63,7°C.

$[\alpha]_{20}^D = +4,6$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du ^1H dans CDCl_3 : δ = 7,76 (2H, d, ar Fmoc); 7,60 (2H, d, ar Fmoc); 7,45-7,22 (7H, m, ar Fmoc, NH Lys, NH Ser, NH Asp.); 7,34 (5H, s, ar Z Lys); 5,83 (1H, d, NH Gly); 5,14 (1H, t, NH Z Lys) 5,07 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,82 (1H, m, CH Asp); 4,57 (1H, m, CH Lys); 4,45-4,35 (3H, m, CH Ser, CH_2 Fmoc); 4,20 (1H, t, CH Fmoc); 3,89 (2H, m, CH_2 Gly); 3,75 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,68 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,39 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,15 (2H, CH_2 -NH Lys); 2,88 (1H, dd, CH_2 Asp); 2,68 (1H, dd, CH_2 Asp); 1,41 (9H, s, tBu Asp); 1,91-1,29 (4H, m, $\text{CH-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys); 1,22 (9H, s, tBu Ser).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : δ = 173,00; 171,90; 170,75; 170,49; 169,76 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly); 157,31; 157,13 (2 O- CO -NH Fmoc et Z); 144,45; 141,98; 137,27; 129,19; 128,78; 128,42; 127,78; 125,77; 120,68 (C ar Fmoc et Z); 82,78 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 74,78 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 68,05; 67,30 (CH_2 Fmoc et CH_2 Z); 61,60 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 54,19 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Ser); 53,01; 52,72 (OCH_3 Lys et $\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); 50,28 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 47,76 (CH Fmoc); 45,26 (CH_2 Gly); 41,38 ($\text{CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys); 37,68 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Asp); 32,58 ($\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-O}$ Lys); 29,99 ($\text{C}^*\text{-CH}_2$ Lys); 28,67 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 28,00 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 23,03 ($\text{C}^*\text{-CH}_2\text{-CH}_2$ Lys).



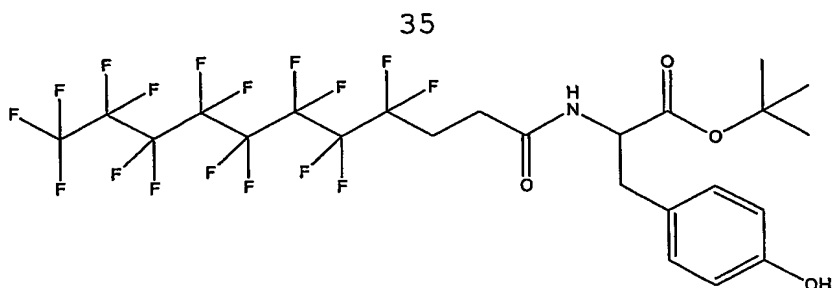
La déprotection du pentapeptide 5 se fait dans les mêmes conditions que lors de la synthèse du composé 1. 400 mg ($4,5 \cdot 10^{-4}$ mole) du tétrapeptide sont déprotégés. Une fois la déprotection terminée, ce tétrapeptide est dissout dans 15 ml de dichlorométhane dans un ballon monocol de 50 ml. 219 mg ($4,5 \cdot 10^{-4}$ mole, 1eq) de Boc Arg(Mtr) OH et 188 mg ($5,85 \cdot 10^{-4}$ mole, 1,3eq) de TBTU sont ajoutés. La réaction se déroule à température ambiante sous flux d'azote, à l'abri de la lumière et est maintenue à pH 8 avec de la DIEA. Au bout de 16 heures, la réaction est terminée (CCM). Après évaporation sous pression réduite, l'huile résiduelle est chromatographiée sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle/cyclohexane : 9/1. La cristallisation se fait dans l'acétate d'éthyle-cyclohexane. 417 mg de 6 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement : 92,5 %.

Point de dégradation : 80,2 °C.

$[\alpha]_D^{20} = -2,9$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du ^1H dans CDCl_3 : $\delta = 7,64$ (1H, d, NH Asp); 7,53 (1H, d, NH Gly); 7,49-7,29 (7H, m, ar Z Lys, NH Lys, NH Ser); 6,54 (1H, s, H ar Mtr); 6,34-6,15 (3H, m, 3 NH guanidine Arg); 5,65 (1H, d, NH Boc Arg); 5,24 (1H, t, NH Z Lys); 5,10 (2H, s, CH_2 Z Lys); 4,77 (1H, m, CH Asp); 4,46 (2H, m, CH Lys, CH Ser); 4,22 (1H, m, CH Arg); 3,89-3,70 (3H, m, CH_2 Gly, 1H du CH_2 Ser); 3,84 (3H, s, OCH_3 Mtr Arg); 3,71 (3H, s, OCH_3 Lys); 3,50 (1H, dd, CH_2 Ser); 3,21 (2H, m, CH_2 - CH_2 -NH Arg); 3,17 (2H, CH_2 -NH Lys); 2,90-2,64 (8H, m, 2 CH_3 Mtr Arg, CH_2 Asp); 2,15 (3H, s, CH_3 Mtr Arg); 1,84-1,19 (37H, m, tBu Asp, tBu Ser, tBu Boc Arg, CH - CH_2 - CH_2 - CH_2 Lys, CH - CH_2 - CH_2 Arg).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : $\delta = 174,32$; 174,13; 172,85; 171,48; 171,35; 170,92; 170,18 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, NH - C -NH Arg); 158,96; 157,20; 156,55 (2 O- CO -NH Boc et Z, C - OCH_3 Mtr Arg); 139,07; 137,25; 137,06; 134,19; 129,07; 128,87; 128,61; 125,30, 112,28 (C ar Mtr et Z); 82,37 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp); 80,53 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Arg); 74,63 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 67,09 (CH_2 Z); 60,96 (C^* - CH_2 Ser); 55,99 (C - OCH_3 Mtr Arg); 54,57; 54,23 (C^* - CH_2 Ser, C^* - CH_2 Arg); 52,87; 52,74 (OCH_3 Lys et C^* - CH_2 Lys); 50,37 (C^* - CH_2 Asp); 43,92 (CH_2 Gly); 41,25; 40,75 (CH_2 -NH-CO-O Lys, CH_2 -NH-C-NH Arg); 37,59 (C^* - CH_2 Asp); 32,27 (CH_2 - CH_2 -NH-CO-O Lys); 30,33; 29,83 (C^* - CH_2 Lys, C^* - CH_2 Arg); 28,94; 28,56; 27,86 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Asp, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Ser, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ Arg); 25,93 (C^* - CH_2 - CH_2 Arg); 24,74 (C^* - CH_2 - CH_2 Lys); 23,06; 18,95; 12,52 (3 CH_3 Mtr Arg).



Dans un ballon de 50 ml, 500 mg ($1,01 \cdot 10^{-3}$ mol) de $C_8F_{17}CH_2CH_2COOH$, 278 mg de H_2N TYR(OH) OtBu ($1,01 \cdot 10^{-3}$ mol, 1 eq) et 251 mg de DCC ($1,2 \cdot 10^{-3}$ mol, 1,2 eq) sont dissous dans 10 ml de DMF. La réaction se fait à température ambiante pendant 24 heures sous flux d'azote, à l'abrit de la lumière et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Après évaporation sous pression réduite du DMF, le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle/cyclohexane : 2/8.

Le produit est cristallisable dans acétate d'éthyle / n heptane. 550 mg de 7 sous forme d'une poudre blanche sont obtenus. Rendement: 76%.

Point de fusion :

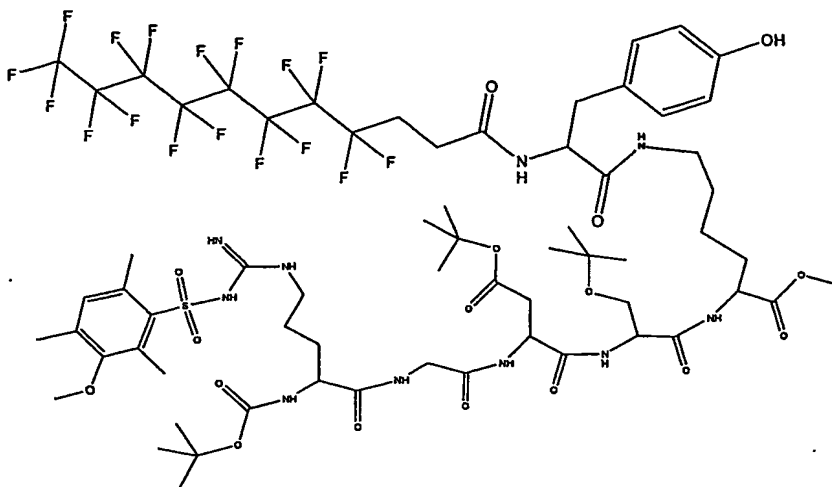
$[\alpha]_D^{20} = +30,0$ (c, 1, CH_2Cl_2).

RMN du 1H dans $CDCl_3$: $\delta = 6,98$ (2H, d, 2H ar Tyr); 6,72 (2H, d, 2H ar Tyr); 6,04 (1H, m, NH Tyr); 4,72 (1H, m, CH Tyr); 3,02 (2H, m, $CF_2-CH_2-\underline{CH_2}-CO$); 2,47 (4H, m, $CF_2-\underline{CH_2}-CH_2-CO$, $\underline{CH_2}$ Tyr); 1,44 (9H, s, tBu).

RMN du ^{13}C dans $CDCl_3$: $\delta = 170,94$ ($\underline{CO-O}$); 169,52 ($\underline{CO-NH}$); 155,13 ($\underline{C-OH}$ Tyr); 130,70 (\underline{C} ar Tyr); 127,82 ($\underline{C-CH}$ ar Tyr); 115,49 ($\underline{CH-C-OH}$ ar Tyr); 122,5-106,3 ($\underline{CF_3(CF_2)_7}$); 82,92 ($\underline{C-(CH_3)_3}$); 53,93 ($NH-\underline{C^*}-CO$); 37,32 ($C^*-\underline{CH_2}$); 27,16 ($\underline{CH_2-CF_2}$); 25,02 ($\underline{CH_2-CO}$).

RMN du ^{19}F dans le $CDCl_3$: $\delta = -82,17$; -115,50 ; -122,63 ; -123,49 ; -124,25 ; -127,06.

36



10

380 mg ($5,34 \cdot 10^{-4}$ mol) du composé 7 sont dissous à froid dans une solution TFA / CH_2Cl_2 (3/7). Après 2 heures d'agitation, la déprotection est terminée. Le milieu réactionnel est ensuite concentré puis précipité dans l'éther plusieurs fois. Après évaporation, une poudre blanche est obtenue (composé 8).

150 mg ($1,32 \cdot 10^{-4}$ mol) du composé 6 sont dissous dans du méthanol. 8 mg de Palladium sur charbon à 10% sont additionnés à froid. Le milieu réactionnel est placé sous 8 atmosphères d'hydrogène. Au bout de 2 h 30 la réaction est terminée. Le mélange est filtré sur célite 521 et le filtrat concentré sous pression réduite (composé 9).

Dans un ballon de 50 ml, le composé 9 ($1,32 \cdot 10^{-4}$ mol) est dissout dans 10 ml de DMF. 95 mg du composé 8 ($1,45 \cdot 10^{-4}$ mol, 1,1 eq) et 76 mg de TBTU ($1,72 \cdot 10^{-4}$ mol, 1,3 eq) sont additionnés. La réaction se fait à température ambiante pendant 24 heures sous flux d'azote, à l'abri de la lumière et est maintenue à pH 8 à l'aide de DIEA. Le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. Le résidu est chromatographié sur gel de silice à l'aide d'un éluant Acétate d'éthyle. 141 mg de produit 10 sont obtenus sous forme d'une poudre blanche. Rendement 65,3%.

Température de dégradation: 76,8 °C.

$[\alpha]_{20}^D = -5,4$ (c, 1, CH_3OH).

RMN du ^1H dans CD_3OD : $\delta = 7,06$ (2H, d, 2H ar Tyr); 6,74 (1H, s, H ar Mtr); 6,69 (2H, d, 2H ar Tyr); 4,80-4,53 (4H, m, CH Asp, CH Lys, CH Ser CH Tyr); 4,04 (1H, m, CH Arg); 3,88-3,85 (5H, m, CH₂ Gly, OCH₃ Mtr Arg); 3,72-3,63 (5H, m, OCH₃ Lys, CH₂ Ser); 3,22-2,31 (18H, m, CH₂-CH₂-NH Arg, CH₂-NH Lys, 2 CH₃ Mtr Arg, CH₂ Asp, CF₂-CH₂-CH₂-CO, CF₂-CH₂-CH₂-CO, CH₂ Tyr); 2,15 (3H, s, CH₃ Mtr Arg); 1,85-1,20 (37H, m, tBu Asp, tBu Ser, tBu Boc Arg, CH-CH₂-CH₂-CH₂ Lys, CH-CH₂-CH₂ Arg).

RMN du ^{13}C dans CDCl_3 : $\delta = 179,69$; 174,13– 173,95; 172,32; 172,07; 171,29; 171,10; 170,77; 170,21 (CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, NH-C-

NH Arg, $\underline{\text{CO-NH}}$ Tyr, $\underline{\text{CO-NH}}$, $\text{C}_8\text{F}_{17}\text{CH}_2\text{CH}_2\underline{\text{CONH}}$; 158,49; 156,80; 155,94 ($\text{O-}\underline{\text{CO-NH}}$ Boc, $\underline{\text{C-OCH}_3}$ Mtr Arg, $\underline{\text{C-OH}}$ ar Tyr); 138,10; 136,49; 133,45; 129,97; 127,54; 124,31; 114,81; 111,41 ($\underline{\text{C}}$ ar Mtr, $\underline{\text{C}}$ ar Tyr); 81,22; 79,47 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ Asp, $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ Arg); 73,42 ($\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ Ser); 61,12 ($\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Ser); 54,61; 52,24; 51,31; 49,91 ($\text{C-O}\underline{\text{CH}_3}$ Mtr Arg, $\underline{\text{C}}^*-\text{CH}_2$ Ser, $\underline{\text{C}}^*-\text{CH}_2$ Arg, $\text{NH-}\underline{\text{C}}^*-\text{CO}$ Tyr, $\text{O}\underline{\text{CH}_3}$ Lys et $\underline{\text{C}}^*-\text{CH}_2$ Lys, $\underline{\text{C}}^*-\text{CH}_2$ Asp); 42,29; 40,08; 38,60; 37,15; 36,69 ($\underline{\text{CH}_2}$ Gly, $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-CO-O}}$ Lys, $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-C-NH}}$ Arg, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Asp, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Tyr); 30,77; 28,92; 28,25; 27,40; 26,96; 26,34; 25,95 ($\underline{\text{CH}_2-}$ $\underline{\text{CH}_2-\text{NH-CO-O}}$ Lys, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Lys, $\text{C}^*-\underline{\text{CH}_2}$ Arg, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Asp, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Ser, $\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$ Arg, $\underline{\text{CH}_2-}\text{CF}_2$, C^*-CH_2- $\underline{\text{CH}_2}$ Lys); 22,94; 22,53 (1 $\underline{\text{CH}_3}$ Mtr Arg, $\text{CF}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_2-\text{CO}}$); 17,42; 10,71 (2 $\underline{\text{CH}_3}$ Mtr Arg).

Le composé 10 soumis à l'action d'une solution d'acide trifluoroacétique dans le CH_2Cl_2 en présence de thioanizole (3 ; 5 ; 2) pendant 24H conduit au composé B qui est isolé pur après précipitation par ajout d'éther à la solution et chromatographie sur colonne Séphadex G50 (éluant H_2O). Après lyophilisation le produit B se présente sous forme de poudre blanche.

B- Tests Biologiques

La cytotoxicité de cette molécule a été testée sur des cellules de mélanome B16, aucune toxicité n'a pu être mesurée jusqu'à des concentrations supérieures à $100\mu\text{M}$. Après marquage à l'iode 125, cette molécule injectée par voie IV à un lot de souris porteuses d'un mélanome s'accumule au niveau du stroma de la tumeur puis diffuse lentement au sein de la tumeur (cf Tableau 2)

Tissu	15 mn	30 mn	1 h
Tumeur (stroma)	$3,9 \pm 0,8$	$3,8 \pm 0,9$	$4,2 \pm 0,6$
Tumeur (centre)	$1,7 \pm 0,6$	$1,8 \pm 0,3$	$2,4 \pm 0,4$
Sang	$5,8 \pm 0,8$	$4,5 \pm 0,8$	$3,6 \pm 0,7$
Foie	$4,8 \pm 0,8$	$2,2 \pm 0,6$	$2,4 \pm 0,7$
Rein	$8,9 \pm 1,6$	$5,9 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,6$
Thyroïde	$5,9 \pm 1,2$	$10,2 \pm 2,5$	$15,3 \pm 5,3$

Tableau 2 : Radoactivité mesurée chez des souris porteuses de mélanome B16 après injection par voie IV de la molécule B ($10\mu\text{Ci/animal}$).

4/ Exemple 4 :

N-(*t*-butyloxycarbonyl)-*N*^γ-(2,3,6-triméthyl-4-méthoxy-benzènesulfonyl)-L-arginyl-glycyl-*O*-(*t*-butyl)-L-aspartyl-*O*-(*t*-butyl)-L-sérinyl-*N*^ε-((4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,10,10,11,11,11-heptadécafluoroundécanyloyl)-*N*^ε-(4-(4-[bis(2-chloroéthyl)amino]phényl)-butyramido)-L-lysinyll-L-tyrosinamido)-L-lysinate de méthyle :

La synthèse du composé **D** est comparable à celles précédemment décrite pour les composés précédents et est résumé sur les figures 2A et 2B.

10 **Caractéristique physico-chimiques de D**

Rf : 0.49 dans acétate d'éthyle / méthanol: 98/2.

MM : 2051.87 g.mol⁻¹.

Température de dégradation : 134 °C.

[α]_D²⁰ = - 0.77 (c, 0.1, CH₃OH).

MS (FAB): *m/z* 2052 [M+H]⁺, 2074 [M+Na]⁺.

15 **RMN ¹H (CD₃OD) :**

δ 7.03 (4H, m, 2H arom. Tyr, 2H arom. Chloramb); 6.67 (5H, m, 2H arom. Tyr, 2H arom. Chloramb., H arom Mtr); 4.81; 4.47; 4.20; 4.01 (6H, 3m, H_α Tyr, 2H_α Lys, H_α Asp, H_α Ser, H_α Arg); 3.82 (3H, s, CH₃ éther Mtr Arg); 3.68 (3H, s, CH₃ ester méthylique Lys); 3.83-3.60 (12H, m, 2H_α Gly, 2H_β Ser, 8H Chloramb.); 3.14-2.75 (10H, m, 4H_ε Lys, 2H_δ Arg, 2H_β Asp, 2H_β Tyr); 2.67-2.48 (8H, m, 2H_α et 2H_β chaîne fluorée, 2H_α Chloramb., 2H_γ Chloramb.); 2.67; 2.61 (6H, 2m, 2 CH₃ Mtr Arg); 2.13 (5H, m, 2H_β Chloramb., CH₃ Mtr Arg); 1.93-1.16 (16H, m, 4H_β Lys, 4H_γ Lys, 4H_δ Lys, 2H_β Arg, 2H_γ Arg); 1.44; 1.42; 1.16 (27H, 3s, 9 CH₃ ester *ter* butylique Asp, éther *ter* butylique Ser, uréthane *ter* butylique Arg).

25

RMN ¹³C (CD₃OD) :

δ 174.67; 174.14; 172.57; 172.31; 171.80; 171.75; 171.26; 170.80; 170.17 (CO Tyr, 2CO Lys, CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, CO chaîne fluorée, CO Chloramb.); 158.46; 156.80; 156.67; 155.93 (CO uréthane Boc, C-OCH₃ arom. Mtr Arg, C-OH arom. Tyr, C guanidine Arg); 144.55 (C-N arom. Chloramb.); 138.10; 136.48; 133.42; 130.29; 129.97; 129.22; 127.51; 124.29; 114.83; 112.06; 111.38; 110.73 (C arom. Mtr, C arom. Tyr, C arom. Chloramb.); 81.17; 79.43 (C *ter* butylique ester Asp, C uréthane *ter* butylique Arg); 73.40 (C *ter* butylique éther Ser); 61.14 (C_β Ser); 54.96; 54.60; 54.53; 53.89; 53.14; 52.26; 51.31; 49.90 (CH₃ éther méthylique Mtr Arg, C_α Ser, C_α Arg, C_α Tyr, CH₃ ester méthylique Lys, 2C_α Lys, C_α Asp, 2C-N Chloramb.); 42.30; 40.29; 38.58; 36.67; 36.52; 35.20 (C_α Gly, 2C_ε Lys, C_δ Arg, C_β Asp, C_β Tyr, 2C-Cl Chloramb.); 33.85; 31.02; 30.69; 28.91; 28.67; 28.15; 27.69; 27.41; 26.96; 26.36; 25.82; 25.46 (2C_δ Lys, 2C_β Lys, C_β Arg,

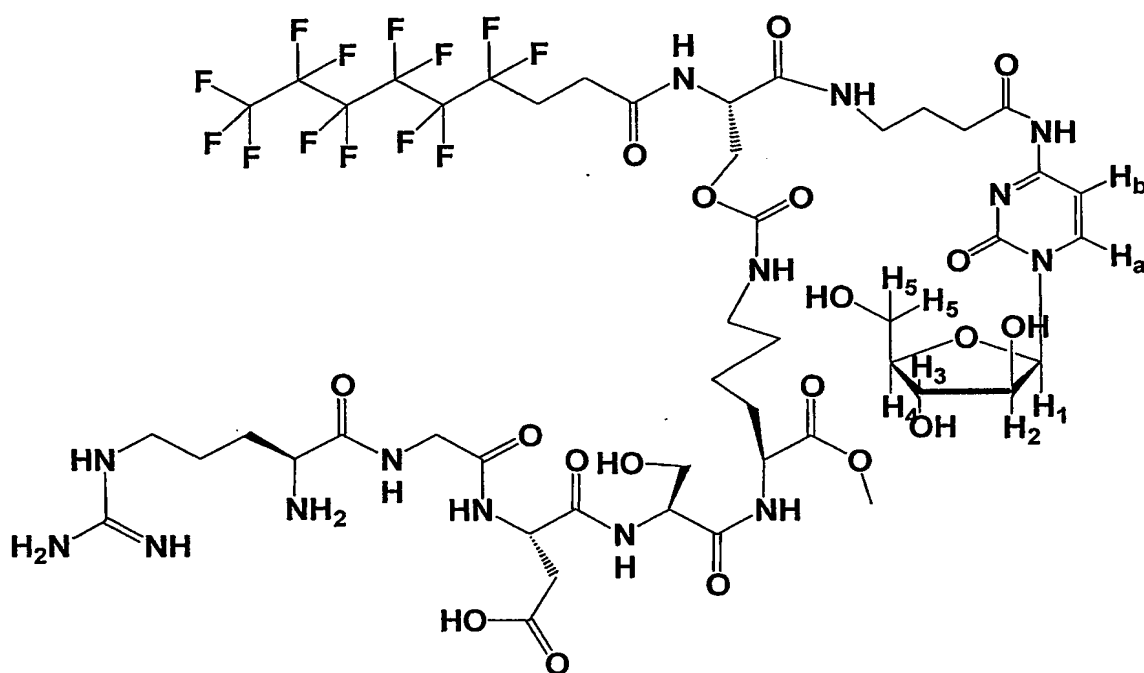
C_γ Arg, 9 CH₃ *ter* butylique Asp, Ser, Arg, C_α-CF₂, 2C_γ Lys, C_α, C_γ Chloramb.); 23.00; 22.66 (C_β chaîne fluorée, C_γ Chloramb.); 22.52; 17.47; 10.74 (3 CH₃ méthyle Mtr Arg).

RMN ¹⁹F (CD₃OD) :

5 δ -82.26 (3F); -115.39 (2F); -122.77 (6F); -123.62 (2F); -124.30 (2F); -127.17 (2F).

5/ Exemple 5:

L-arginyl-glycyl-L-aspartyl-L-sérinyl-N^ε-(O-(N⁴-(N-(4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-tridécafluorononanoyle)-L-sérinyl)-1-β-D-arabinofuranosylcytosine)-oxycarbonyl)-L-lysinate de méthyle :



Mode opératoire :

15 Procédé de préparation de F identique aux précédents, la synthèse est résumée sur les figures 3A, 3B et 3C.

Caractéristiques physico-chimiques de F.

MM : 1390.45 g.mol⁻¹.

MS (FAB): *m/z*

1391 [M+H]⁺.

20 RMN ¹H (DMSO, D₆) :

δ 8.66 (1H, s, H acide Asp); 8.27-8.16; 7.94-7.84; 7.65; 7.21-6.92 (15H, 3m, H_a, NH GABA, 2NH Ser, 4H guanidine Arg, NH₂ Arg, NH Gly, NH Asp, 2NH Lys, NH Ara-C); 5.84 (1H, m, H_b); 5.31 (2H, m, 1H_α Ser, H₁); 4.92 (1H, m, H_α Asp); 4.37-3.71 (17H, m, H_α Lys, H_α Ser, H_α Arg, 2H_α Gly, 4H_β Ser, H₂, H₃, H₄, CH₃ ester méthylique Lys, 2 H₅); 3.18-2.53 (14H, m, 2H_ε Lys, CH₂-NH GABA, 4OH, 2H_β Asp, 2 H_α et 2 H_β chaîne

fluorée); 2.23 (2H, m, CH₂-CO GABA); 1.46-1.03 (14H, m, 2H_β, 2H_γ, 2H_δ Lys, 2H_β, 2H_γ, 2H_δ Arg, CH₂ GABA).

RMN ¹³C (DMSO, D₆) :

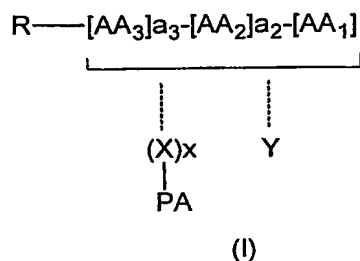
- 5 δ 173.9; 173.6; 173.4; 172.8; 171.1; 170.4; 170.1; 169.6; 169.1; 168.6 (CO Lys, 2 CO Ser, 2 CO Asp, CO Gly, CO Arg, CO chaîne fluorée, CO GABA); 162.6; 157.4; 156.2; 155.0 (C guanidine Arg, CO uréthane Ser, N=C-NH, N-CO-N); 147.2 (C_a); 94.8 (C_b); 87.5; 86.2 (C₁, C₄); 76.6; 75.0 (C₂, C₃); 65.4; 62.0; 61.5 (2 C_β Ser, C₅); 55.6; 53.0; 52.5; 52.3; 51.7; 50.1 (2 C_α Ser, C_α Arg, CH₃ ester méthylique Lys, C_α Lys, C_α Asp); 42.5 (C_α Gly); 40.8;
- 10 38.5; 37.3; 34.8; 34.1; 30.9; 29.4; 29.0; 26.3; 24.8; 24.3; 23.0 (C_ε Lys, C_δ Arg, CH₂-NH GABA, C_β Asp, C_δ Lys, C_β Lys, CH₂-CO GABA, C_β Arg, C_α et C_β chaîne fluorée, C_γ Arg, CH₂ GABA, C_γ Lys).

RMN ¹⁹F (DMSO, D₆) :

- 15 δ -82.30 (3F); -115.51 (2F); -122.81 (6F); -123.82 (2F); -124.46 (2F); -127.21 (2F).

REVENDEICATIONS

1. Composé répondant à la formule (I) ci-dessous :



dans laquelle :

PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

AA₁, AA₂, AA₃, identiques ou différents, représentent chacun un acide aminé ;

a₂, a₃, identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi 0 et 1 ;

R représente un groupement choisi parmi :

- toute molécule susceptible d'être reconnue par la cible du principe actif PA,

et

- un agent hydrophile permettant la modulation de la balance HLB

de la molécule de formule (I), R étant choisi parmi les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les hormones naturelles ou synthétiques, les peptides, les anticorps, les polyéthers, les polyols,

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant un

groupement $\text{C}=\text{O}$, -NH-, -O-CO-NH-, S ou O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique [AA₃]_{a3}-[AA₂]_{a2}-[AA₁], soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ;

la liaison entre PA-(X)_x et la chaîne [AA₃]_{a3}-[AA₂]_{a2}-[AA₁] se faisant avec la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA₁, AA₂, AA₃ ou en extrémité de la chaîne peptidique.

2. Composé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le principe actif est choisi parmi ceux ayant une activité anticancéreuse, une activité anti radicaux libres, anti-inflammatoire, antiseptique, analgésique, neuroleptique, antifongique.

5 3. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que le principe actif est une molécule linéaire ramifiée ou cyclique comportant de 1 à 30 atomes de carbone, une ou plusieurs insaturations, notamment un ou plusieurs cycles aromatiques, et une ou plusieurs fonctions choisies parmi : -O-, -S-, -OH, -SH, -Cl, -F, -Br,

-I, $\text{—}\overset{\text{N}}{\text{—}}$, -NH-, -NH₂, $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—}$, -COH, -COOH, -CONH₂, -COO-, -CONH-,

$\text{—CON}\begin{smallmatrix} \diagup \\ \diagdown \end{smallmatrix}$, $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{S—}$, $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{S—}$, $\text{—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—O—}$, $\text{—NH—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—O—}$, $\text{—NH—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—NH—}$, =NH,

10 $\text{—O—}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C—O—}$, $\text{—NH—}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C—O—}$, $\text{—NH—}\overset{\text{S}}{\parallel}\text{C—NH—}$, -N=O, $\text{—}\overset{\text{N}^+}{\text{—}}\text{O}^-$,

$\text{—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{P—O—}$, $\text{—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{P—}$, $\text{—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{P—H}$, $\text{—HC—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{P—OH}$
 OH OH

15 4. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'acide aminé relié à PA-(X)_x- ou à Y par sa chaîne latérale est choisi parmi ceux comportant une fonction acide, amide, amine, thiol, alcool sur leur chaîne latérale.

5. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le bras espaceur X comprend 1 à 3 acides aminés.

20 6. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que R est un peptide choisi parmi les fragments d'anticorps ou épitope ayant une affinité prononcée pour la cible biologique de PA

7. Composé selon la revendications 6, caractérisé en ce qu'il comporte au moins une séquence peptidique choisie parmi la séquence Arg-Gly-Asp.

25 8. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que R est constitué d'une chaîne polyoxyde d'éthylène comprenant de 5 à 30 unités oxyde d'éthylène ou d'un polyol constitué d'une chaîne alkyle comprenant de 4 à 16 atomes de carbone et de 4 à 16 groupements hydroxyle.

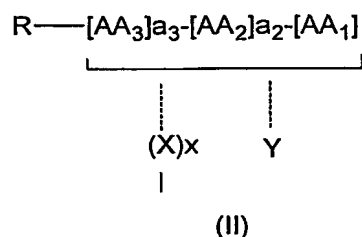
9. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que R est choisi parmi : le glucose, le fructose, le mannose, le galactose, le ribose, la glucosamine, le lactose, le cellobiose, le maltose, le lactobionamide, le saccharose.

10. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que l'un au moins du bras espaceur X, de la chaîne peptidique $[AA_3]_{a_3}-[AA_2]_{a_2}-[AA_1]$ et de R comporte au moins un résidu tyrosine.

11. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que la chaîne hydrocarbonée fluorée Y est choisie parmi celles répondant

à la formule A-Y' dans laquelle A représente un groupement choisi parmi : $-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$, $-\text{NH}-$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S, O et Y' représente une molécule répondant à la formule $-(\text{CH}_2)_t-(\text{CF}_2)_r\text{F}$, dans laquelle r et t représentent deux entiers avec : $12 \geq r+t \geq 4$.

12. Molécule biologiquement active comportant un fragment de formule (II) :



dans laquelle x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

AA_1 , AA_2 , AA_3 , identiques ou différents, représentent chacun un acide

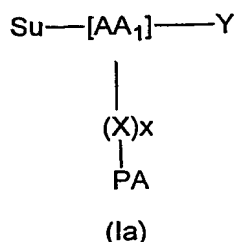
aminé ;

a_2 , a_3 , identiques ou différents, représentent chacun un entier choisi parmi 0 et 1 ;

R est choisi parmi les monosaccharides, les dérivés aminés de sucres, les polysaccharides, les polyéthers, les polyols, les peptides, les hormones naturelles ou synthétiques, les anticorps ;

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C_4 - C_{12} comportant un groupement $-\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}-$, $-\text{NH}$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}$, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de la chaîne peptidique $[AA_3]_{a_3}-[AA_2]_{a_2}-[AA_1]$, soit sur la chaîne latérale de l'un des acides aminés AA_1 , AA_2 , AA_3 , l'un au moins du bras espaceur X, de la chaîne peptidique $[AA_3]_{a_3}-[AA_2]_{a_2}-[AA_1]$ et de R comporte au moins un résidu tyrosine.

13. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ia) :



dans laquelle :

Su représente un groupement choisi parmi un monosaccharide, un dérivé aminé de monosaccharide, un polysaccharide, un polyol ou un polyéther;

5 AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale, par l'intermédiaire de laquelle il est relié soit à (X)_x-PA soit à Y; AA₁ est relié à Su et soit à (X)_x-PA, soit à Y, par ses extrémités N- et C-terminales ;

PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

10 x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une

fonction choisie parmi $\overset{\text{O}}{\parallel} \text{C}-$, $-\text{NH}$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

15 14. Composé selon la revendication 13, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

- Su représente un mono ou un polysaccharide ;

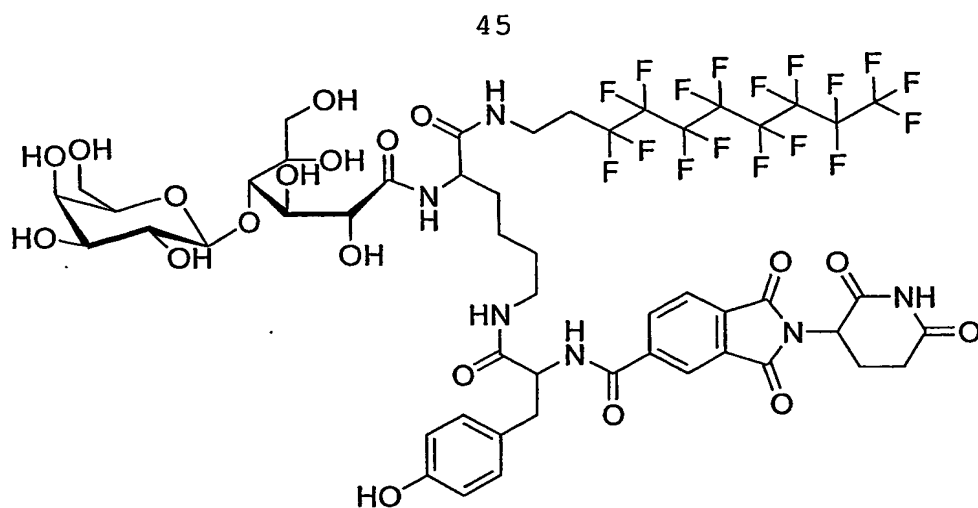
- X représente un bras espaceur de nature peptidique comportant au moins un résidu tyrosine ;

20 - AA₁ représente un acide aminé choisi parmi l'arginine et la lysine ;

- Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₆-C₁₂ comportant de 5 à 23 atomes de fluor, reliée à l'acide aminé AA₁ par une fonction $-\text{NH}-$.

15 15. Composé selon la revendication 14, caractérisé en ce que le principe actif est choisi parmi les molécules susceptibles de bloquer le processus d'angiogénèse, notamment le thalidomide.

25 16. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce qu'il répond à la formule A :

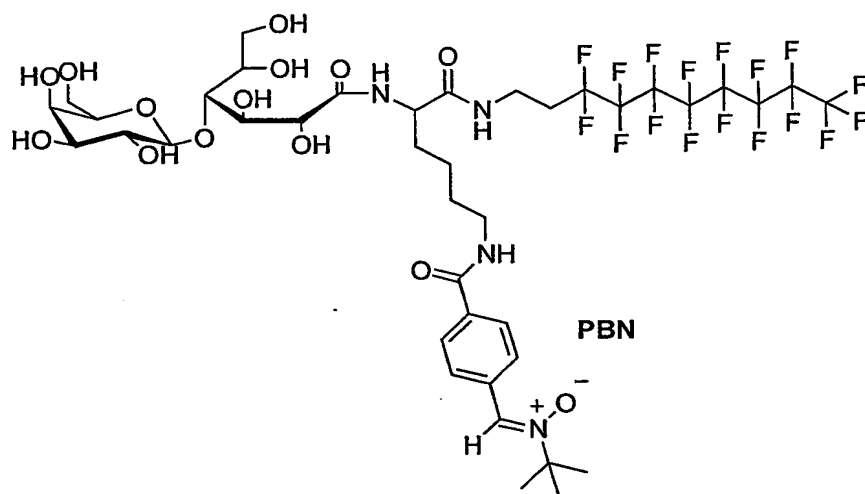


Molécule A

17. Composé selon la revendication 15, caractérisé en ce que le principe
 5 actif PA est choisi parmi les agents anti-radicalaires, notamment les dérivés du N-benzylidène tertibutyl amine oxyde.

18. Composé selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il répond à la
 formule E :

10



Molécule E

15

19. Composé selon la revendication 12 caractérisé en ce qu'il répond à la
 formule (Ib) :

Pep-[AA₁]-Y
 (Ib)

dans laquelle :

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool ou thiol, sur sa chaîne latérale,

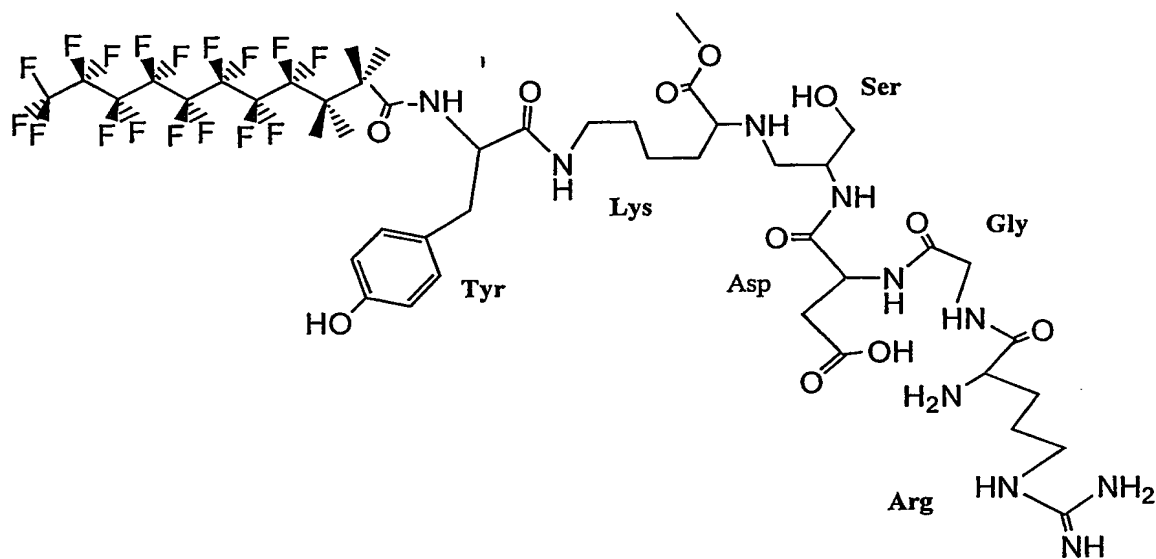
Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une

5 fonction choisie parmi $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$, $-\text{NH}$, $-\text{O}-\text{CO}-\text{NH}-$, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

Pep représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10, préférentiellement de 4 à 6 acides aminés, l'un au moins de Pep et de AA₁ comportant au moins un motif tyrosine.

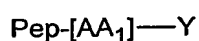
10 20. Composé selon la revendication 19, caractérisé en ce que Pep comporte une séquence argine-glycine-acide aspartique.

21. Composé selon l'une quelconque des revendications 19 et 20, caractérisé en ce qu'il répond à la formule B :

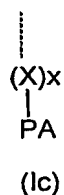


Molécule B

22. Composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, caractérisé en ce qu'il répond à la formule (Ic) :



47



dans laquelle :

PA représente un principe actif susceptible d'agir sur une cible biologique ;

5 Pep représente une chaîne peptidique comportant de 2 à 10 acides aminés
x représente un entier choisi parmi 0 et 1 ;

X représente une chaîne peptidique comprenant de 1 à 5 acides aminés ;

AA₁ représente un acide aminé portant une fonction acide, amine, alcool, thiol, sur sa chaîne latérale,

10 Y représente une chaîne hydrocarbonée fluorée en C₄-C₁₂ comportant une
fonction choisie parmi - $\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-$, -NH-, -O-CO-NH-, S, O permettant son rattachement soit à l'une des extrémités de l'acide aminé AA₁, soit sur la chaîne latérale de AA₁.

23. Composé selon la revendication 22, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont vérifiées :

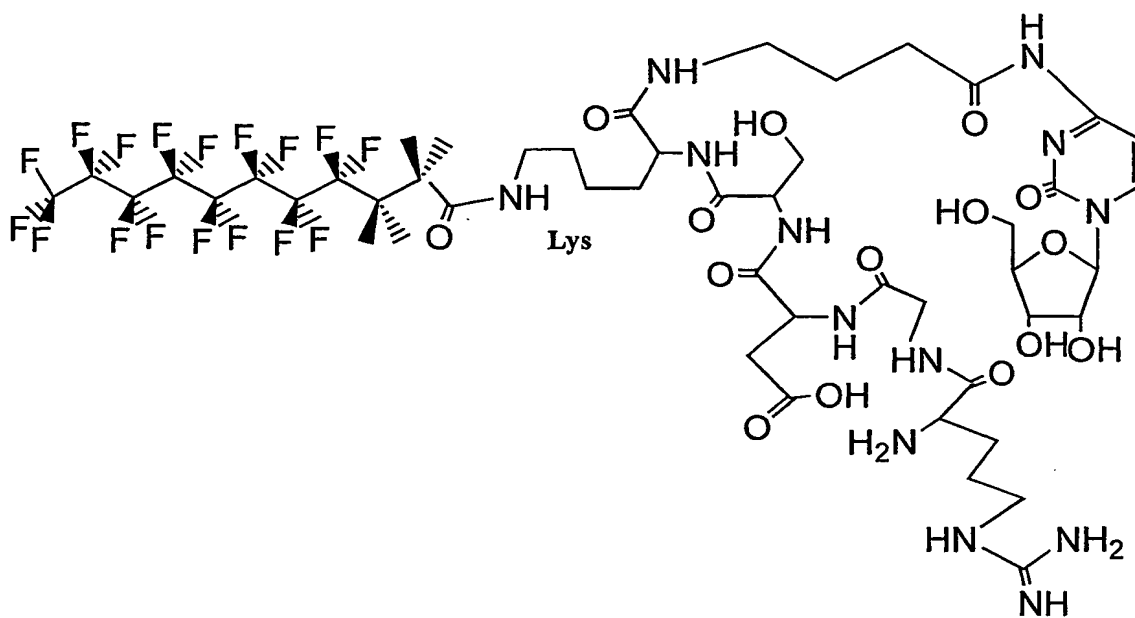
15 Pep est un peptide reconnu par les intégrines $\alpha\text{V}\beta 3$ et PA est un agent antimitotique ;

X, Pep ou AA₁ comporte au moins un résidu tyrosine,

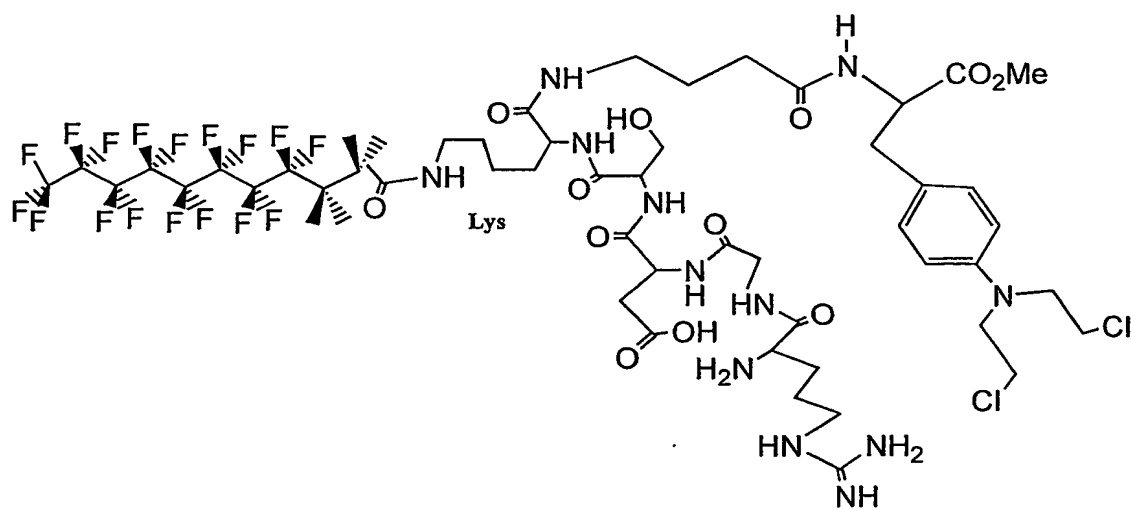
X représente une chaîne de 1 à 3 acides aminés,

20 24. Composé selon la revendication 22 ou la revendication 23, caractérisé en ce qu'il répond à l'une des formules C, D et F :

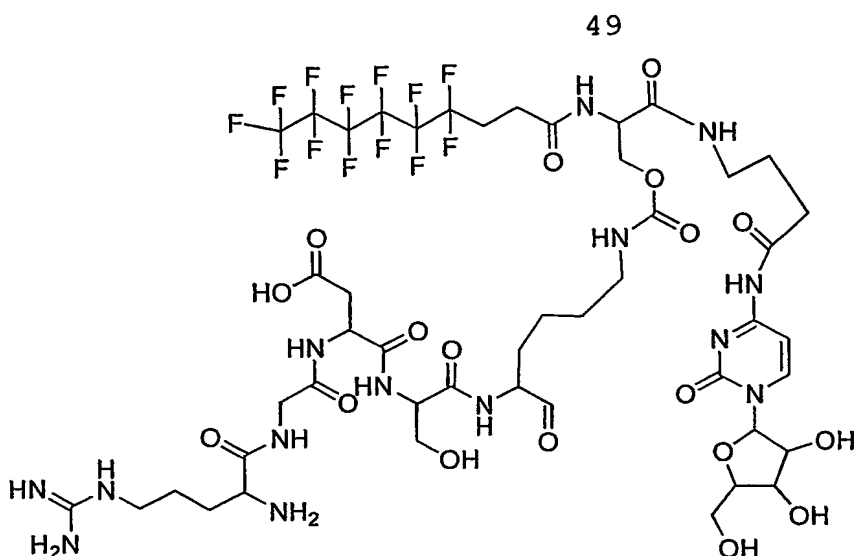
48



Molécule C (Ara-C)



Molécule D (Melphalan)



Molécule F

25. Composé selon la revendication 22, caractérisé en ce que PA est l'adryamicine et X ou Pep comporte un fragment Gly-Phe-Leu-Gly.

5 26. Composé selon la revendication 22, caractérisé en ce que PA est choisi parmi le melphalan, le 5-fluorouracile, l'imitinib mésylate.

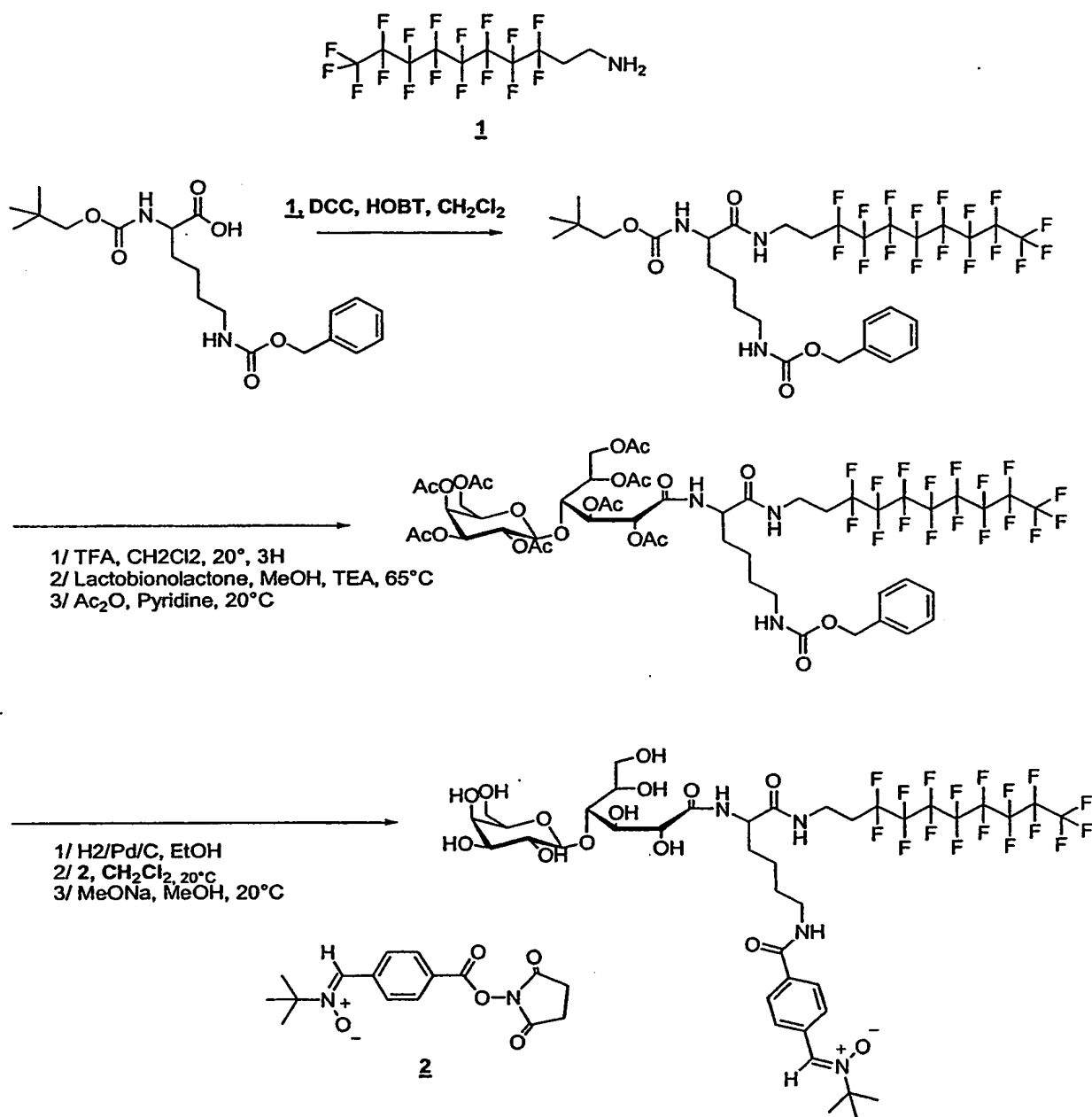
27. Composition pharmaceutique comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 et 13 à 18 dans un support pharmaceutiquement acceptable.

10 28. Utilisation d'un composé de formule A, C, D ou F selon l'une des revendications 16 et 24 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter le cancer.

29. Utilisation d'un composé de formule B selon la revendication 21 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à détecter la présence de
15 cellules cancéreuses.

30. Utilisation d'un composé de formule E selon la revendication 18 pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à prévenir et/ou traiter les pathologies liées au stress oxydatif et à la formation des espèces radicalaires oxygénées.

FIGURE 1:
Synthèse chimique du vecteur dote d'un spin-trap dérivé de la PBN



2/6

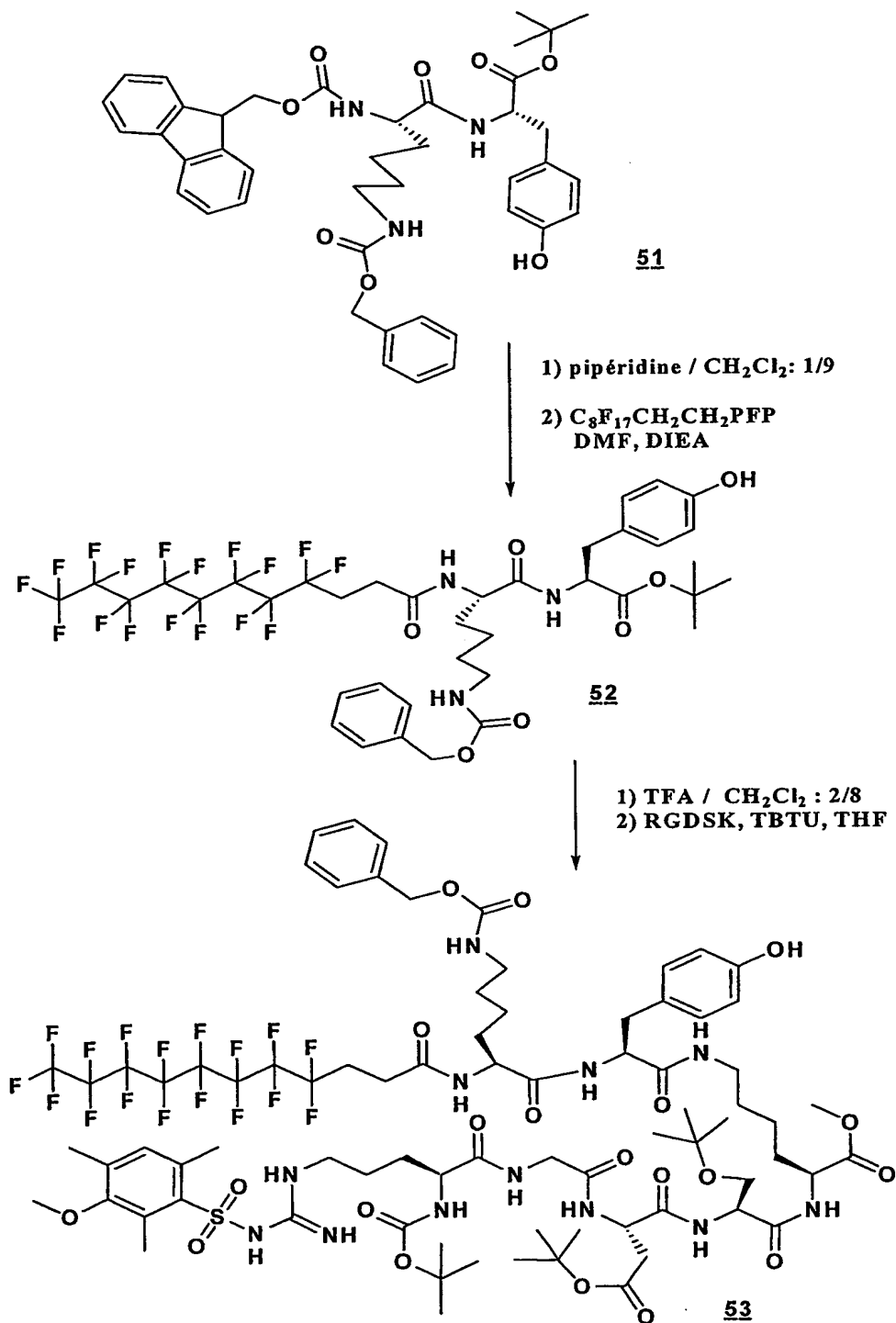


FIGURE 2A : Synthèse de la molécule D

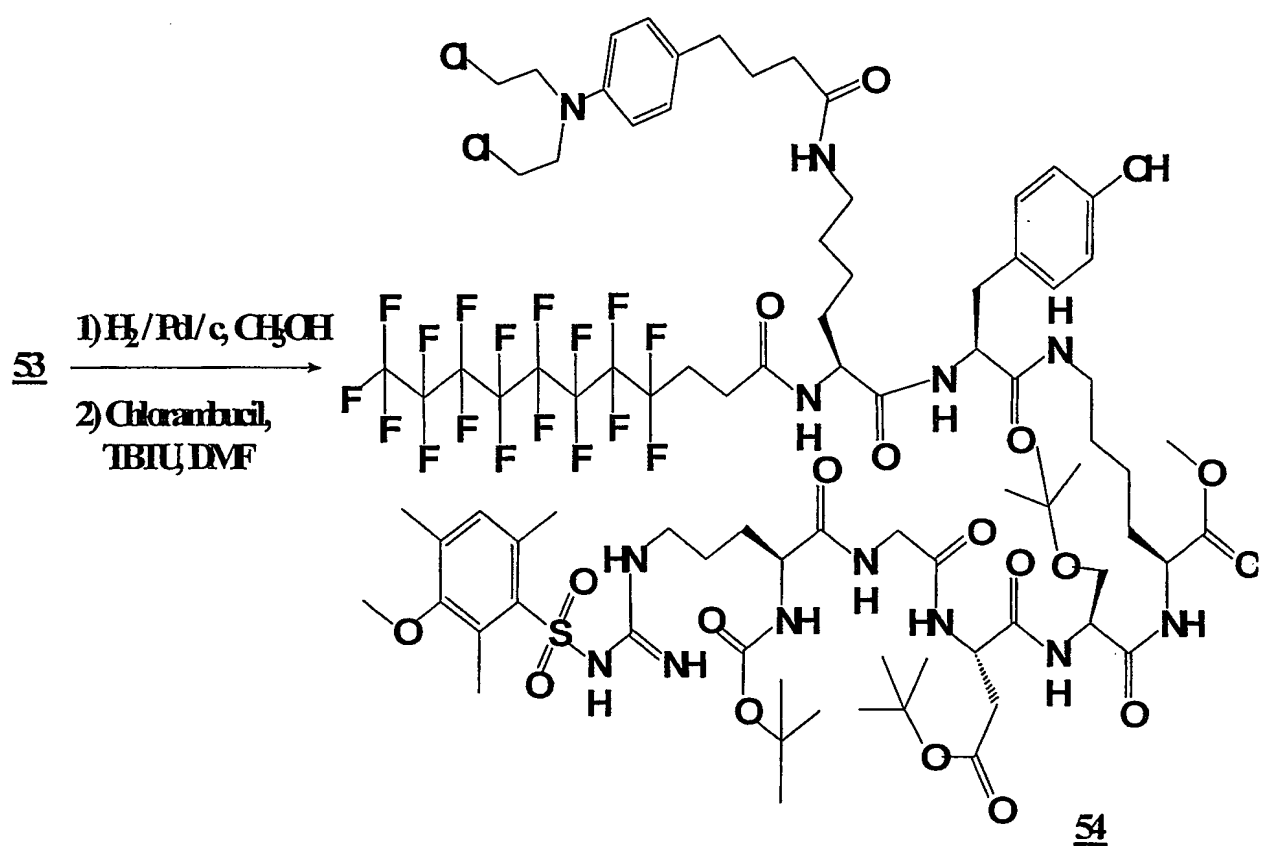


FIGURE 2B : Synthèse de la Molécule D (suite)

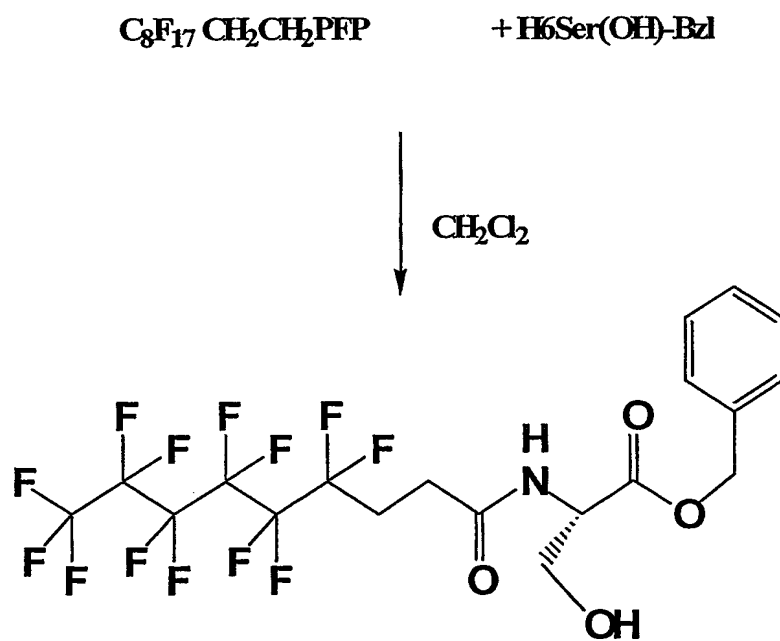


FIGURE 3A : Synthèse de la molécule F

5/6

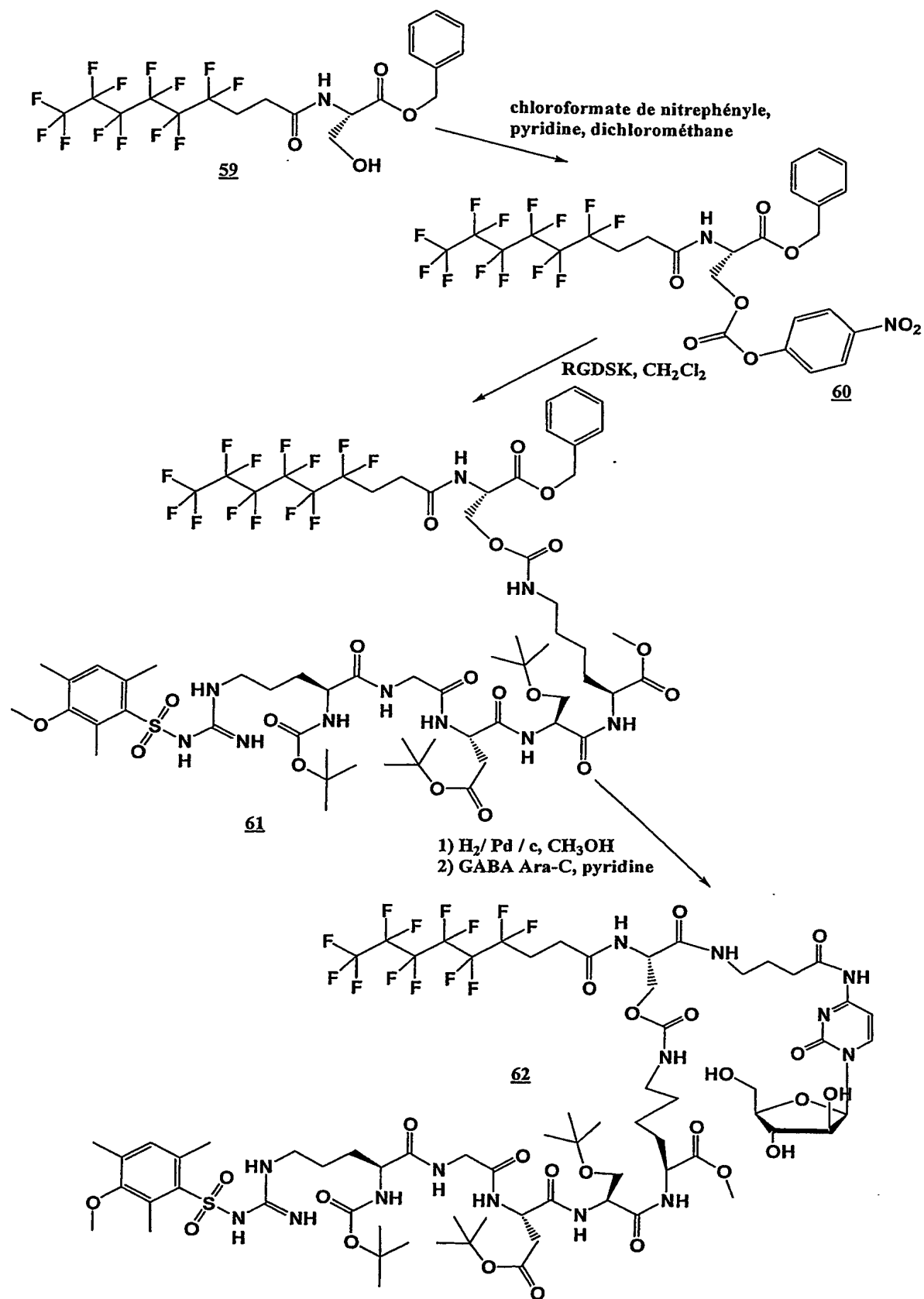


FIGURE 3B: Synthèse de la molécule F



FIGURE 3C : Synthèse de la molécule F

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 mai 2004 (27.05.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/043993 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ : C07K 2/00,
5/10, A61K 47/48, 9/00, 47/26

(74) Mandataires : ORES, Béatrice etc.; Cabinet Ores, 36 rue
de Saint Petersburg, F-75008 Paris (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/003336

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(22) Date de dépôt international :
7 novembre 2003 (07.11.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/14077 8 novembre 2002 (08.11.2002) FR

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) : TS
PHARMA [FR/FR]; 830 Chemin de Vergon, F-13510
Eguilles (FR). UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES
PAYS DU VAUCLUSE [FR/FR]; 74 rue Louis Pasteur,
F-84029 Avignon Cedex 1 (FR).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des
revendications, sera republiée si des modifications sont re-
çues

(72) Inventeurs; et
(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : PUCCI,
Bernard [FR/FR]; 12 avenue des Alpilles, F-13940 Mol-
leges (FR). POLIDORI, Ange [FR/FR]; 16D avenue de la
Synagogue, F-84000 Avignon (FR). CONTINO-PEPIN,
Christiane [FR/FR]; 10 lotissement "La Garance",
F-84210 Althen Des Paluds (FR). DURAND, Grégory
[FR/FR]; 12 avenue Louis Pasteur, BP 105, F-30401 Vil-
leneuve Lez Avignon Cedex (FR). JASSERON, Sylvain
[FR/FR]; 105 route d'Avignon, F-30650 Rochefort Du
Gard (FR). PERINO, Sandrine [FR/FR]; Chemin de
Rayalette, F-30390 Domazan (FR).

(88) Date de publication du rapport de recherche
internationale: 29 juillet 2004

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de
la Gazette du PCT.

(54) Title: NOVEL AMPIPHILIC FLUOROCARBON MOLECULAR VECTORS FOR BIOMEDICAL AND MEDICAL USE

(54) Titre : NOUVEAUX VECTEURS MOLECULAIRES AMPHIPHILES FLUOROCARBONES A USAGE BIOMEDICAL ET
MEDICAL

(57) Abstract: Novel amphiphilic fluorocarbon molecules applicable as vectors for active ingredients, active molecules comprising
such a vector and the use thereof in the pharmaceutical field, particularly for the production of medicaments.

(57) Abrégé : Nouvelles molécules amphiphiles fluorocarbonées susceptibles d'être utilisées comme vecteur de principes actifs, des
molécules actives comportant un tel vecteur et leur utilisation dans le domaine de la pharmacie, notamment pour la préparation de
médicaments.

WO 2004/043993 A3

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/FR 03/03336

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K2/00 C07K5/10 A61K47/48 A61K9/00 A61K47/26

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 446 023 A (GUEDJ CAMILLE ET AL) 29 August 1995 (1995-08-29) the whole document	1-4,9, 11,13
X	GUEDJ C ET AL: "Vesicles and other supramolecular systems from biocompatible synthetic glycolipids with hydrocarbon and/or fluorocarbon chains." CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, vol. 72, no. 2, 1994, pages 153-173, XP009013441 ISSN: 0009-3084 Composé V, Fig. 1.	1-4,9, 11,13

-/--



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 April 2004

Date of mailing of the international search report

22/06/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lopez García, F

Application No
PCT/FR 03/03336

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>TONG G ET AL: "THE SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDE-POLYAMIDE CONJUGATE MOLECULES SUITABLE AS PCR PRIMERS" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, US, vol. 58, no. 8, 9 April 1993 (1993-04-09), pages 2223-2231, XP000562640 ISSN: 0022-3263 Compound 29.</p> <p>---</p>	1-3,11
X	<p>HAVIV FORTUNA ET AL: "In vitro and in vivo activities of reduced-size antagonists of luteinizing hormone-releasing hormone" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 37, no. 5, 1994, pages 701-705, XP002278652 ISSN: 0022-2623 Compounds 47-49</p> <p>---</p>	1-6, 10-12, 19,22,23
X	<p>HOCART S J ET AL: "EFFECT OF REDUCTIVE ALKYLATION OF D LYSINE IN POSITION 6 ON THE HISTAMINE-RELEASING ACTIVITY LHRH" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 30, no. 4, 1987, pages 739-743, XP002278653 ISSN: 0022-2623 Compound 15</p> <p>---</p>	12,19
A	<p>CONTINO-PEPIN C ET AL: "AMPHIPHILIC OLIGOMERS: A NEW KIND OF MACROMOLECULAR CARRIER OF ANTIMITOTIC DRUGS" CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY. ANTI-CANCER AGENTS, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, HILVERSUM, NL, vol. 2, no. 6, November 2002 (2002-11), pages 645-665, XP009013445 ISSN: 1568-0118 the whole document</p> <p>---</p>	1-30
A	<p>JASSERON SYLVAIN ET AL: "Synthesis and preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers." BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 12, no. 7, 2002, pages 1067-1070, XP002247711 8 April, 2002 ISSN: 0960-894X cited in the application the whole document</p> <p>---</p>	1-30

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/FR 03/03336

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with Indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CHAUDIER Y ET AL: "Synthesis and preliminary assessments of hybrid hydrocarbon-fluorocarbon anionic and non-ionic surfactants" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 42, no. 21, 21 May 2001 (2001-05-21), pages 3583-3585, XP004238694 ISSN: 0040-4039 the whole document</p> <p>-----</p>	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Application No
PCT/FR 03/03336

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5446023	A	29-08-1995	FR 2694559 A1 11-02-1994
		AU 674157 B2 12-12-1996	
		AU 4708193 A 03-03-1994	
		CA 2141581 A1 17-02-1994	
		DE 69326954 D1 09-12-1999	
		DE 69326954 T2 30-03-2000	
		WO 9403468 A1 17-02-1994	
		EP 0655069 A1 31-05-1995	
		ES 2141164 T3 16-03-2000	
		JP 7509709 T 26-10-1995	
		US 5637564 A 10-06-1997	
		US 5650393 A 22-07-1997	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document internationale No
PCT/FR 03/03336

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 C07K2/00 C07K5/10 A61K47/48 A61K9/00 A61K47/26

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 5 446 023 A (GUEDJ CAMILLE ET AL) 29 août 1995 (1995-08-29) le document en entier	1-4, 9, 11, 13
X	GUEDJ C ET AL: "Vesicles and other supramolecular systems from biocompatible synthetic glycolipids with hydrocarbon and/or fluorocarbon chains." CHEMISTRY AND PHYSICS OF LIPIDS, vol. 72, no. 2, 1994, pages 153-173, XP009013441 ISSN: 0009-3084 Composé V, Fig. 1.	1-4, 9, 11, 13

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

30 avril 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

22/06/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Lopez García, F

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document internationale No
PCT/FR 03/03336

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	TONG G ET AL: "THE SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDE-POLYAMIDE CONJUGATE MOLECULES SUITABLE AS PCR PRIMERS" JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, US, vol. 58, no. 8, 9 avril 1993 (1993-04-09), pages 2223-2231, XP000562640 ISSN: 0022-3263 Compound 29.	1-3,11
X	HAVIV FORTUNA ET AL: "In vitro and in vivo activities of reduced-size antagonists of luteinizing hormone-releasing hormone" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 37, no. 5, 1994, pages 701-705, XP002278652 ISSN: 0022-2623 Compounds 47-49	1-6, 10-12, 19,22,23
X	HOCART S J ET AL: "EFFECT OF REDUCTIVE ALKYLATION OF D LYSINE IN POSITION 6 ON THE HISTAMINE-RELEASING ACTIVITY LHRH" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 30, no. 4, 1987, pages 739-743, XP002278653 ISSN: 0022-2623 Compound 15	12,19
A	CONTINO-PEPIN C ET AL: "AMPHIPHILIC OLIGOMERS: A NEW KIND OF MACROMOLECULAR CARRIER OF ANTIMITOTIC DRUGS" CURRENT MEDICINAL CHEMISTRY. ANTI-CANCER AGENTS, BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, HILVERSUM, NL, vol. 2, no. 6, novembre 2002 (2002-11), pages 645-665, XP009013445 ISSN: 1568-0118 le document en entier	1-30
A	JASSERON SYLVAIN ET AL: "Synthesis and preliminary biological assessments of RGD bearing biocompatible telomers." BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 12, no. 7, 2002, pages 1067-1070, XP002247711 8 April, 2002 ISSN: 0960-894X cité dans la demande le document en entier	1-30
	--- -/--	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Internationale No
PCT/FR 03/03336

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>CHAUDIER Y ET AL: "Synthesis and preliminary assessments of hybrid hydrocarbon-fluorocarbon anionic and non-ionic surfactants"</p> <p>TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 42, no. 21, 21 mai 2001 (2001-05-21), pages 3583-3585, XP004238694</p> <p>ISSN: 0040-4039</p> <p>le document en entier</p> <p>-----</p>	1-30

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Document internationale No
PCT/FR 03/03336

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 5446023	A	29-08-1995	FR 2694559 A1	11-02-1994
			AU 674157 B2	12-12-1996
			AU 4708193 A	03-03-1994
			CA 2141581 A1	17-02-1994
			DE 69326954 D1	09-12-1999
			DE 69326954 T2	30-03-2000
			WO 9403468 A1	17-02-1994
			EP 0655069 A1	31-05-1995
			ES 2141164 T3	16-03-2000
			JP 7509709 T	26-10-1995
			US 5637564 A	10-06-1997
			US 5650393 A	22-07-1997